

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**Daniel Almeida Freitas**

**EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O  
HIPOCAMPO E CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS WISTAR: ANÁLISE DE  
PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS, STATUS REDOX, NEUOTRÓFICO E  
EM TAREFAS DE MEMÓRIA**

**Diamantina**

**2017**



**Daniel Almeida Freitas**

**EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O  
HIPOCAMPO E CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS WISTAR:ANÁLISE DE  
PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS, STATUS REDOX, NEUOTRÓFICO E  
EM TAREFAS DE MEMÓRIA**

Dissertação apresentada ao programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hércules Ribeiro Leite  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Etel Rocha Vieira

**Diamantina**

**2017**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

F866f      Freitas, Daniel Almeida  
              Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade sobre o  
              hipocampo e córtex cerebral de ratos Wistar: Análise de parâmetros  
              neuroinflamatórios, status redox, neurotrófico e em tarefas de memória  
              / Daniel Almeida Freitas. – Diamantina, 2017.  
              69 p. : il.  
  
              Orientador: Hércules Ribeiro Leite  
              Coorientador: Etel Rocha Vieira  
  
              Dissertação (Mestrado – Programa Multicêntrico de Pós-Graduação  
              em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal dos Vales do  
              Jequitinhonha e Mucuri.  
  
              1. Hipocampo. 2. Estado redox. 3. Mediadores neuroimunes.  
              4. Treinamento intervalado de alta intensidade. 5. Neurotrofina.  
              I. Título. II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e  
              Mucuri.

**CDD 615.8**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**Daniel Almeida Freitas**

**EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O  
HIPOCAMPO E CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS WISTAR: ANÁLISE DE  
PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS, STATUS REDOX, NEUOTRÓFICO E  
EM TAREFAS DE MEMÓRIA**

Dissertação apresentada ao programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hércules Ribeiro Leite

Co-Orientadora: Prof(a) Dr(a) Etel Rocha Vieira

Data de aprovação 26/05/2017.

---

Profª. Dra. Luciana Estefani Drumond  
Universidade Federal de São João Del Rey - UFSJ

---

Prof. Dr. Marco Fabrício Dias Peixoto  
Departamento de Educação Física/FCBS- UFVJM

---

Prof. Dra Etel Rocha Vieira  
Faculdade de Medicina- UFVJM

---

Prof. Dr. Hércules Ribeiro Leite  
Departamento de Fisioterapia/FCBS - UFVJM

**Diamantina**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida por tudo o que tenho e sou.

A Bezinha, minha esposa por está sempre ao meu lado, auxiliadora e incentivadora em tudo o que faço. A Maria Lúcia minha filha, por alegrar os meus dias.

Aos meus pais Raimundo e Wânia, pelo cuidado, valores ensinados, zelo. E o esforço que dispenderam. A minha irmã Adriana pela amizade.

A minha tia Edmê, Flavius seu esposo, aos primos Giovane e Vinicius pela convivência, acolhimento, carinho e propiciar o lar no período no qual cursei disciplinas na UFMG.

Ao tio Waltercides (João) pela atenção e caronas quando necessitei viajar.

Agradeço ao meu sogro Américo e minha sogra Lúcia por todo apoio e a convivência agradável. A minha família em geral primos, primas, tios e tias por socorrer, apoiar e pelos momentos de alegria. As minhas avós Eliza por ser uma representação de garra e dedicação e minha vó Isabel pela paciência, sabeedoria e ao meu avô Sady (in memoriam) por ser generoso e ver a vida de um modo leve.

Sou extremamente grato pelos amigos. Não posso deixar de lembrar de alguns deles vou começo com a Jeanne Martins por compartilhar as dificuldades e anseios desta caminhada e se dispor sempre. A Ana Cristina Camargos e Michaelle Santos, que sufoco executar aquele trabalho de Fisio Renal.

Não poderia deixar de externar a minha gratidão a todos que colaboraram de maneira direta para a execução deste trabalho, ao Bruno Soares, Bruna Garcia, Sueli Fonseca dispuseram horas até mesmos dias para contribuir com este trabalho. A Rosalina pela paciência e ensino de algumas técnicas, a Karine Beatriz por tirar as minhas dúvidas e auxiliar na resolução de alguns “probleminhas”.

Aos membros do Laboratório de Inflamação e Metabolismo, Laboratório de Fisiologia do Exercício e Laboratório de Imunologia do Cipq Saúde da UFVJM pela solicitude e presteza constantes.

As professoras Vanessa Amaral e Ana Cristina Lacerda, por todo o suporte dado a este trabalho, foram fundamentais para que este fosse concluído.

Agradeço ao meu orientador Hércules Leite pela atenção, mentoreamento, socorro nas dificuldades e ensinamentos.

Agradeço a minha co-orientadora Etel Vieira, pelo suporte e ensinamentos. A todos os professores citados e não citados por ser referências em um mundo tão conturbado,

pela inspiração e motivação na busca do conhecimento. Meus agradecimentos ao professor Wagner, Cristiane e a amiga Mariana Matos pelas contribuições ao texto.

Enfim agradeço aos irmãos da IBC Diamantina pelos momentos de convivência e orações. Não poderia ficar sem mencionar as instituições que suportaram a execução deste trabalho, à UFVJM por meio de sua estrutura física e seus recursos humanos e a Fapemig pela bolsa de estudos ofertada.





## RESUMO

O treinamento físico de intensidade leve e moderada estão associados a efeitos neurais benéficos, contudo o exercício de alta intensidade contínuo a efeitos neurais maléficos, pouco é conhecido sobre os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade em inglês *high intensity interval training* (HIIT) em parâmetros neuroquímicos e de memória. O presente estudo avaliou em ratos da linhagem Wistar os efeitos de 6 semanas de HIIT sobre o estado redox, concentração de mediadores inflamatórios fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1-beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10) e do fator neurotrófico derivado cérebro, do inglês *brain derived neurothrophic factor* (BDNF) no hipocampo e córtex cerebral. Além disso, foi avaliado o desempenho nas tarefas de reconhecimento espacial de objeto (hipocampo-dependente) e tarefa de reconhecimento de novo objeto (córtex-dependente). O presente estudo aprovado pela Comissão de Experimentação Animal (CEUA-UFVJM) sob número de protocolo (031/2015). Após 6 semanas de HIIT, os animais apresentaram redução de 28,57% do conteúdo de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e aumento de 75% da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e de 50,83% da capacidade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP - "*Ferric reducing ability of plasma*"). no hipocampo. Além disso, o HIIT reduziu a concentração de mediadores neuroimunes no hipocampo (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-10) respectivamente em (24,8%;13,9%; 33,93% e 16,33%), aumentou a concentração de BDNF em 60,21% e não interferiu no desempenho dos animais nas tarefas de reconhecimento espacial de objeto e reconhecimento de novo objeto. Nenhum dos parâmetros investigados foram alterados no córtex cerebral. O presente estudo mostrou efeito positivo de 6 semanas de HIIT específico por região cerebral, sendo que tais modificações resultaram em efeitos neurais benéficos no hipocampo de animais submetidos a um treinamento forçado.

**Palavras chave:** Ratos. Hipocampo. Estado redox. Mediadores neuroimunes. HIIT. Neurotrofina.



## ABSTRACT

Although High Intensity Interval Training (HIIT) is associated with neuroprotection, there is no information available on the balance of pro and anti-inflammatory cytokines, as well as redox status, expression of neurotrophins and their impacts on different neural substrates and cognitive function. The present study evaluated the effects of a 6 weeks HIIT protocol on redox homeostasis, concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1-beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL -6) and interleukin 10 (IL-10) and brain derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampus and cerebral cortex of Wistar rats. In addition, we evaluated the performance in the object spatial recognition tasks (hippocampus-dependent) and the new object recognition task (cortex-dependent). After 6 weeks of the HIIT protocol, the animals showed a reduction in the content of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) and an increase in the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) and in the total antioxidant capacity evaluated by the iron reduction method (FRAP - Ferric reducing ability of plasma) in the hippocampus. In addition, HIIT reduced the concentration of neuroimmune mediators in the hippocampus (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10), increased BDNF concentration and did not interfere in the performance of animals in the object recognition task. None of the investigated parameters were altered in the cerebral cortex. The present study was the first to show positive effect of 6 weeks of HIIT on specific brain-region, and such modifications result in a neuroprotective effect in the hippocampus of animals submitted to the stress of forced training.

**Keywords:** Rats. Hippocampus. Redox state. Neuroimmune mediators. HIIT. Neurotrophin.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 – Representação esquemática temporal dos mecanismos envolvidos na iniciação da plasticidade sináptica .....</b>	<b>10</b>
<b>Figura 2 – Representação esquemática da modulação dos exercícios físicos no encéfalo, mediadores envolvidos e efeitos.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 3 – Ilustração esquemática do hipocampo e suas regiões em corte sagital .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 4 – Representação das alterações neuroquímicas no hipocampo em animais submetidos a exercício de alta intensidade e sua relação com a memória .....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 5 – Representação esquemática do desenho experimental .....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 6 – Ilustração da tarefa de reconhecimento espacial de objeto .....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 7 – Ilustração da tarefa de reconhecimento de novo objeto .....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 8 – Representação esquemática dos efeitos neurais do Treinamento Intervalado de Alta Intensidade de no hipocampo de ratos Wistar .....</b>	<b>49</b>
<b>Gráfico 1 – Efeitos de 6 semanas de HIIT em parâmetros metabólicos .....</b>	<b>34</b>
<b>Gráfico 2 – Efeitos de 6 semanas de HIIT no conteúdo de TBARs no hipocampo (A) e córtex cerebral (B). .....</b>	<b>35</b>
<b>Gráfico 3 – Efeitos de um programa de HIIT com duração de 6 semanas nas atividades da enzima SOD e CAT e FRAP no hipocampo e córtex cerebral .....</b>	<b>37</b>
<b>Gráfico 4 – Efeito de 6 semanas de HIIT na concentração de mediadores inflamatórios no hipocampo e córtex cerebral. ....</b>	<b>39</b>
<b>Gráfico 5 – Efeitos de 6 semanas de HIIT na concentração de BDNF no hipocampo e córtex cerebral .....</b>	<b>40</b>
<b>Gráfico 6 – Efeitos de 6 semanas de HIIT na tarefa de reconhecimento espacial de objeto tarefa de reconhecimento de novo objeto e tempo total de exploração .....</b>	<b>42</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPARs	<i>α-amino-3-hidroxy-5-methyl-4- isoxazole propionic acis receptors</i>
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
BSA	albumina soro bovino
CA	Corno de Amon
CAT	catalase
DTPA	ácido dietilenotriaminopentacético
EDTA	<i>ethylenediamine tetracetic acid</i>
ELISA	<i>enzyme lynked imunossorbent assay</i>
ERK	<i>extracellular signal regulated kinase</i>
ERO	espécies reativas de oxigênio
ERONs	espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
FeCl <sub>3</sub>	cloreto férrico
FeSO <sub>4</sub>	sulfato ferroso
FRAP	<i>ferric reducing ability of plasma</i>
GDNF	fator neurotrófico derivado da linhagem de células gliais
GRd	glutathione redutase
GPx	glutathione peroxidase
HHA	hipotálamo hipófise adrenal
HIIT	<i>high intensity interval training</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1M)	ácido sulfúrico a 1 molar
HRP	<i>horseradish</i> peroxidase
IGF-I	fator de crescimento semelhante a insulina tipo
IL	Interleucina
JNK	<i>c-Jun-N-terminal kinase</i>
KCl	cloreto de potássio
KIU	Unidad Inhibidora de Calicreina
LTP	potenciação de longa duração
MCD	memória de curta duração
MDA	malondialdeído
MLD	memória de longa duração
NaCl	cloreto de sódio

NCS-1	sensor neuronal de cálcio 1
NGF	fator de crescimento do nervo
NMDA	<i>N-methyl-D-aspartate</i>
NO	óxido nítrico
OPD	<i>o-phenylenediamine dihydrochloride</i>
PSD-95	<i>postsynaptic density protein 95</i>
PMSF	<i>phenylmethanesulfonyl fluoride</i>
RNS	<i>reactive nitrogen species</i>
SDS	dodecil sulfato de sódio
SOD	superóxido dismutase
TBA	ácido tiobarbitúrico
TBARS	espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TFK	tampão fosfato de potássio
TLRs	<i>toll-like receptors</i>
TRK $\beta$	receptor tirosina cinase $\beta$



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>05</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>07</b>
2.1 Objetivo Geral.....	07
2.2 Objetivos Específicos .....	07
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>09</b>
3.1 Exercício Físico e Função Cerebral .....	09
3.2 Exercício Físico e Estado Redox .....	14
3.3 Exercício e Citocinas.....	16
3.4 Treinamento Intervalado de Alta Intensidade e Função Cerebral.....	18
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
4.1 Animais .....	21
4.2 Desenho Experimental.....	21
4.3 Protocolos de Esforço máximo e Treinamento Intervalado de Alta Intensidade .....	22
4.4 Preparação dos tecidos .....	24
4.5 Preparo das amostras para análise do Estado Redox .....	24
4.5.1 <i>Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)</i> .....	25
4.5.2 <i>Determinação da Atividade da SOD</i> .....	25
4.5.3 <i>Determinação da Atividade da Catalase</i> .....	25
4.5.4 <i>Capacidade Antioxidante total (FRAP)</i> .....	26
4.6 <i>Determinação da concentração de proteínas</i> .....	27
4.7 <i>Determinação da Concentração de Citocinas e BDNF</i> .....	27
4.8 <i>Tarefas Comportamentais</i> .....	28
4.9 <i>Análise Estatística</i> .....	32
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
5.1 <i>Massa Corporal e Adaptações ao treinamento</i> .....	33
5.2 <i>Peroxidação Lípidica (TBARS)</i> .....	35
5.3 <i>Estado Antioxidante Enzimático e Não-enzimático</i> .....	36
5.4 <i>Mediadores Inflamatórios</i> .....	38
5.5 <i>BDNF</i> .....	40
5.6 <i>Testes Comportamentais</i> .....	41
5.6.1 <i>Tarefa de Reconhecimento Espacial de Objeto</i> .....	41
5.6.2 <i>Tarefa de Reconhecimento de Novo Objeto</i> .....	41
5.7 <i>Peso das Adrenais</i> .....	42

<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXO A- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO ESTUDO PELA CEUA UFVJM</b>	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O hipocampo é uma região cerebral que compõe o sistema límbico e está primariamente associada com a memória espacial, e altamente responsiva aos exercícios físicos<sup>1</sup>. Os exercícios físicos aprimoram a função cerebral, promovem a plasticidade neuronal em animais adultos jovens<sup>2</sup> e idosos<sup>3</sup>, bem como previnem a morte celular hipocampal após lesões cerebrais<sup>4</sup>. Além disso, os exercícios físicos exercem um papel neuroprotetor que é dependente da região cerebral e da modalidade dos exercícios (voluntário/forçado e intensidade)<sup>5</sup>.

Na literatura científica evidências mostram que os exercícios de intensidade baixa e moderada induzem adaptações metabólicas positivas no sistema nervoso central, tais como, aprendizado e memória em resposta a redução do dano oxidativo que é promovido por espécies reativas de oxigênio (EROs)<sup>6; 7; 8</sup>, redução de radicais livres<sup>8</sup> e da concentração de citocinas pró-inflamatórias<sup>9</sup>, além de aumento da concentração de fatores neurotróficos<sup>8</sup>, das defesas antioxidantes<sup>6</sup> e da angiogênese<sup>10</sup>. Neste contexto, animais submetidos a oito semanas de natação com intensidade moderada<sup>2</sup> e duas semanas de exercícios voluntários<sup>5</sup>, aprimoram o desempenho na tarefa de reconhecimento espacial e de novo objeto, respectivamente. Parte destes efeitos está relacionada ao aumento do fluxo sanguíneo cerebral que promove o aumento do estresse mecânico dentro dos vasos sanguíneos, e por consequência, induz efeitos benéficos na cascata de sinalização da proteína quinase B e aumenta a expressão do óxido nítrico (NO)<sup>11</sup>. Além disso, o aumento do fluxo sanguíneo em exercícios voluntários propicia aumento das concentrações dos fatores de crescimento, tais como, o VEGF (*vascular endothelial growth factor*), IGF-I (*insulin like growth factor-I*), FGF-2 (*fibroblast growth factor-2*) e a neurotrofina BDNF no hipocampo, e promovem neurogênese no giro denteado<sup>12</sup>.

Os benefícios não estão limitados aos exercícios voluntários, o treinamento moderado em esteira reduziu o dano lipídico nas membranas celulares no hipocampo de animais que foram submetidos à hipoperfusão crônica<sup>13</sup>. Da mesma forma que os benefícios dos exercícios não se limitam a um tipo de treinamento, o mesmo é recíproco em relação ao substrato neural avaliado. O córtex cerebral também apresentou o fluxo sanguíneo aumentado localmente, após a exposição ao exercício crônico voluntário, resultando em aumento da densidade de vasos sanguíneos no local. Esta adaptação foi subjacente ao aumento da demanda energética local associada a aumento da atividade neural<sup>14</sup>.

Contudo, o exercício de alta intensidade parece estar relacionado a diminuição da concentração de neurotrofinas e piora da proliferação neuronal no hipocampo<sup>15</sup>, bem como está relacionado com a redução das concentrações de RNAm de neurotrofinas, tais como, o

BDNF e VEGF<sup>15</sup>, que conduzem a disfunção cognitiva<sup>16; 17</sup> e dano oxidativo em lipídios e proteínas cerebrais<sup>17</sup>. Entre os protocolos de exercícios de alta intensidade, recentemente o HIIT tem sido estudado como uma modalidade capaz de aprimorar a função cerebral em humanos<sup>18</sup>. O HIIT é definido por curtos estímulos de exercícios em alta intensidade, 85 a 100% da velocidade máxima<sup>19</sup> ou do consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2</sub> máx)<sup>20</sup>, intercalados por períodos de repouso ou exercício de baixa intensidade<sup>19</sup>.

Adicionalmente, o HIIT é considerado uma modalidade de treinamento tempo eficiente<sup>21</sup>, que promove adaptações metabólicas benéficas iguais ou superiores ao treino de intensidade moderada contínuo<sup>22; 23</sup>. Porém, um estudo mostrou que sete semanas de HIIT não alteraram a neurogênese no hipocampo de ratos, enquanto os exercícios voluntários aumentaram a neurogênese hipocampal<sup>24</sup>; tal parâmetro está diretamente associado a comportamentos adaptativos, tais como o aprendizado<sup>25</sup>. Outro estudo que avaliou seis semanas de HIIT observou aumento das concentrações do mediador pró-inflamatório (TNF- $\alpha$ ), de neurotrofinas: BDNF e *glial cell line-derived neurothrophic factor* (GDNF) e de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) no conteúdo cerebral total<sup>26</sup>. Esta modalidade de treinamento pode ainda ativar vias de sinalização envolvidas na neuroproteção, culminando com aumento do BDNF que é uma proteína associada a melhor desempenho em tarefa de reconhecimento espacial<sup>27</sup>. Entretanto, estes autores não avaliaram quais são as regiões específicas do cérebro envolvidas nestas alterações, bem como, não há informação disponível referente ao efeito do HIIT sobre o estado redox e mediadores anti-inflamatórios, e o impacto funcional sobre a memória de curta duração.

O HIIT por ser uma modalidade tempo eficiente pode promover adaptações positivas no estado redox reduzindo a peroxidação lipídica no hipocampo e córtex cerebral, favorecendo o balanço de mediadores neuroimunes, aumentando a concentração de BDNF e consequentemente aprimorando o desempenho em testes de memória.

Haja vista o exposto previamente, faz-se necessário conhecer os efeitos do HIIT sobre a homeostase redox, balanço de mediadores pró e antiinflamatórios e a concentração de BDNF em diferentes regiões cerebrais, bem como sobre o desempenho das tarefas de reconhecimento espacial (hipocampo-dependente) e de novo objeto (córtex entorrinal-dependente).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do HIIT sobre a homeostase redox, balanço de mediadores neuroinflamatórios, neurotrófico e a memória em ratos Wistar.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Avaliar o efeito do HIIT em ratos, a saber:

- Analisar o dano oxidativo no hipocampo e córtex cerebral.
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) no hipocampo e córtex cerebral.
- Verificar a capacidade antioxidante total no hipocampo e córtex cerebral.
- Determinar a concentração de mediadores pró-inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) e do mediador antiinflamatório IL-10 no hipocampo e córtex cerebral.
- Quantificar a expressão do fator neurotrófico BDNF no hipocampo e córtex cerebral.
- Comparar o desempenho nas tarefas de reconhecimento de novo objeto e reconhecimento espacial de objeto.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

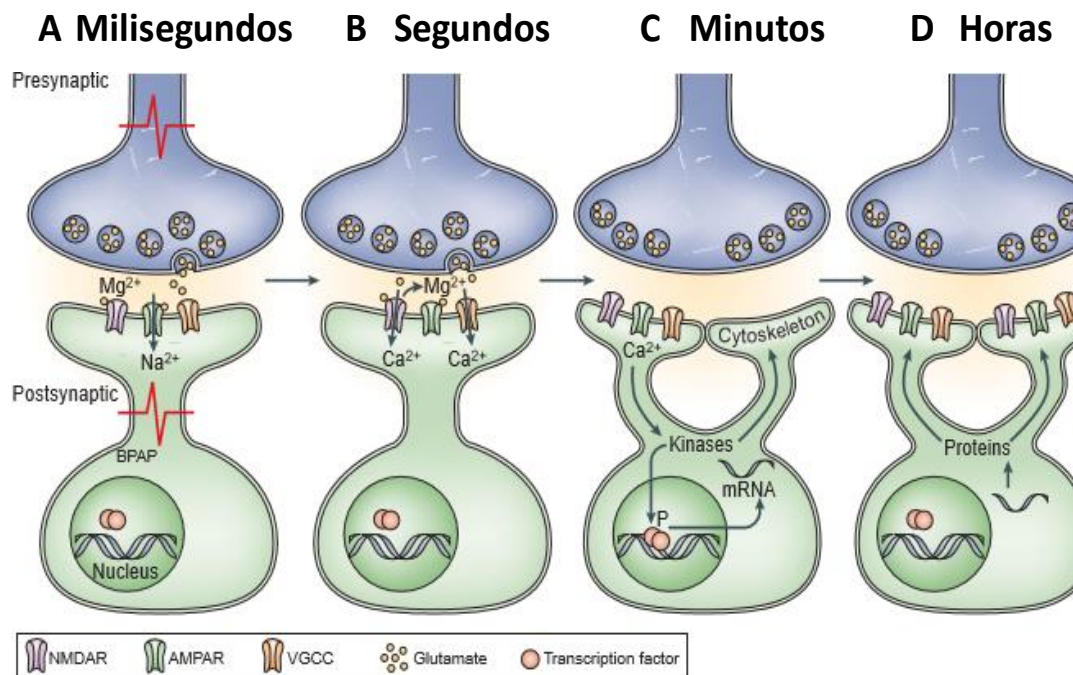
#### 3.1 Exercício Físico e Função Cerebral

O exercício físico é uma forma específica de atividade física, estruturada e repetitiva, que possui o objetivo de melhorar ou manter o condicionamento físico e a saúde<sup>28</sup>. Pode ser executado de diferentes formas, de acordo com os objetivos específicos, tais como, melhora do condicionamento aeróbio<sup>29</sup>, aumento de força e potência muscular<sup>30</sup>. O exercício físico exerce seus benefícios sobre o sistema cardiovascular, produzindo efeitos tais como, a bradicardia de repouso<sup>31</sup> e um melhor controle da pressão arterial em indivíduos hipertensos<sup>32</sup>. Além disso, este atua em diversos sistemas, tais como o sistema imune<sup>33</sup>, o trato gastrointestinal<sup>34</sup> e especialmente o sistema nervoso central<sup>35</sup>.

Estudos têm demonstrado os efeitos benéficos do exercício sobre a saúde e funções cerebrais<sup>35; 36; 37; 38</sup>. Neste contexto, a participação em programas de exercícios físicos tem consistentemente emergido como um indicador chave na melhora da função cognitiva<sup>38</sup>, aumentando a capacidade de aprendizado e memória<sup>39</sup>.

O aprendizado resulta em alterações fisiológicas na transmissão sináptica no sistema nervoso, estas alterações podem ser duradouras ou não. As alterações reversíveis são conhecidas como memória de curta duração (MCD), enquanto que as alterações persistentes, são conhecidas como memória de longa duração (MLD); a estabilização destas alterações requer a síntese de novas proteínas (Figura 1). Dentre os mecanismos descritos na formação de memória, a potenciação de longa duração, do inglês *long term potentiation* (LTP) é fundamental para que ocorra a estabilização das alterações da estrutura sináptica<sup>40</sup>. A LTP é o aumento da amplitude dos potenciais pós-sinápticos excitatórios, como resultado da estimulação de alta frequência de vias aferentes, tem sido observado no estudo de mecanismos de memória<sup>40</sup>. As principais estruturas neurais envolvidas na formação e processamento de memórias são o hipocampo<sup>41</sup>, o córtex cerebral<sup>40; 41</sup> e a amígdala<sup>40</sup>.

Figura 1- Representação esquemática temporal dos mecanismos moleculares envolvidos na iniciação da plasticidade sináptica .



Fonte: Adaptado de Lamprecht e Ledoux, 2004.

(A) A liberação de glutamato nos neurônios pré-sinápticos resulta na ativação do receptor AMPARs ( *$\alpha$ -amino-3-hidroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptors*) e a despolarização dos neurônios pós-sinápticos, (B) a despolarização do neurônio pós-sináptico leva a remoção da inibição do receptor NMDA (N-methyl-D-aspartate) pelo  $\text{Mg}^{2+}$  e influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  e ativação de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  voltagem dependente, (C) o influxo de cálcio ativa quinases, que por sua vez, modula a atividade dos substratos. Os substratos contribuem para alterações as morfológicas locais, por meio da regulação do citoesqueleto ou a indução da transcrição de RNA (ácido ribonucleico) no núcleo por regular fatores de transcrição. (D) O RNA mensageiro (RNAm) transcrito é traduzido em proteínas que são capturadas por sinapses ativadas e contribuem para a estabilização de alterações sinápticas. VGCC (*voltage gated channel calcium*).

Neste contexto, um protocolo de natação de 8 semanas em ratos Wistar, mostrou-se efetivo no aumento da memória espacial de curto prazo. Ocorreu aumento na expressão da proteína sensor neuronal de cálcio (NCS-1), que esta envolvida na cascata de reações bioquímicas do BDNF, por conseguinte, favorecendo o aumento do número de sinapses funcionais, contribuindo para a plasticidade de curto prazo de células hipocampais<sup>2</sup>. Adicionalmente, O BDNF tem a sua expressão aumentada no hipocampo e córtex peririnal de ratos adultos, após 4 semanas de exercícios, culminando em melhor desempenho em tarefas de reconhecimento de novo objeto comparado a animais não-treinados<sup>5</sup>. Além disso, os exercícios voluntário e resistido aumentam a concentração de BDNF no hipocampo, contudo, o segundo tipo aumenta a expressão gênica de moléculas associadas a sinalização do BDNF,



resultando em aprimoramento da memória espacial<sup>1; 42</sup>. O treinamento de baixa intensidade na esteira, além de melhorar o desempenho espacial, após 14 dias consecutivos em animais submetidos à oclusão da artéria cerebral média, favorece o aumento das concentrações de PSD-95 (*postsynaptic density protein 95*) e sinapsina-1, moléculas relacionadas à plasticidade sináptica no hipocampo<sup>1</sup>.

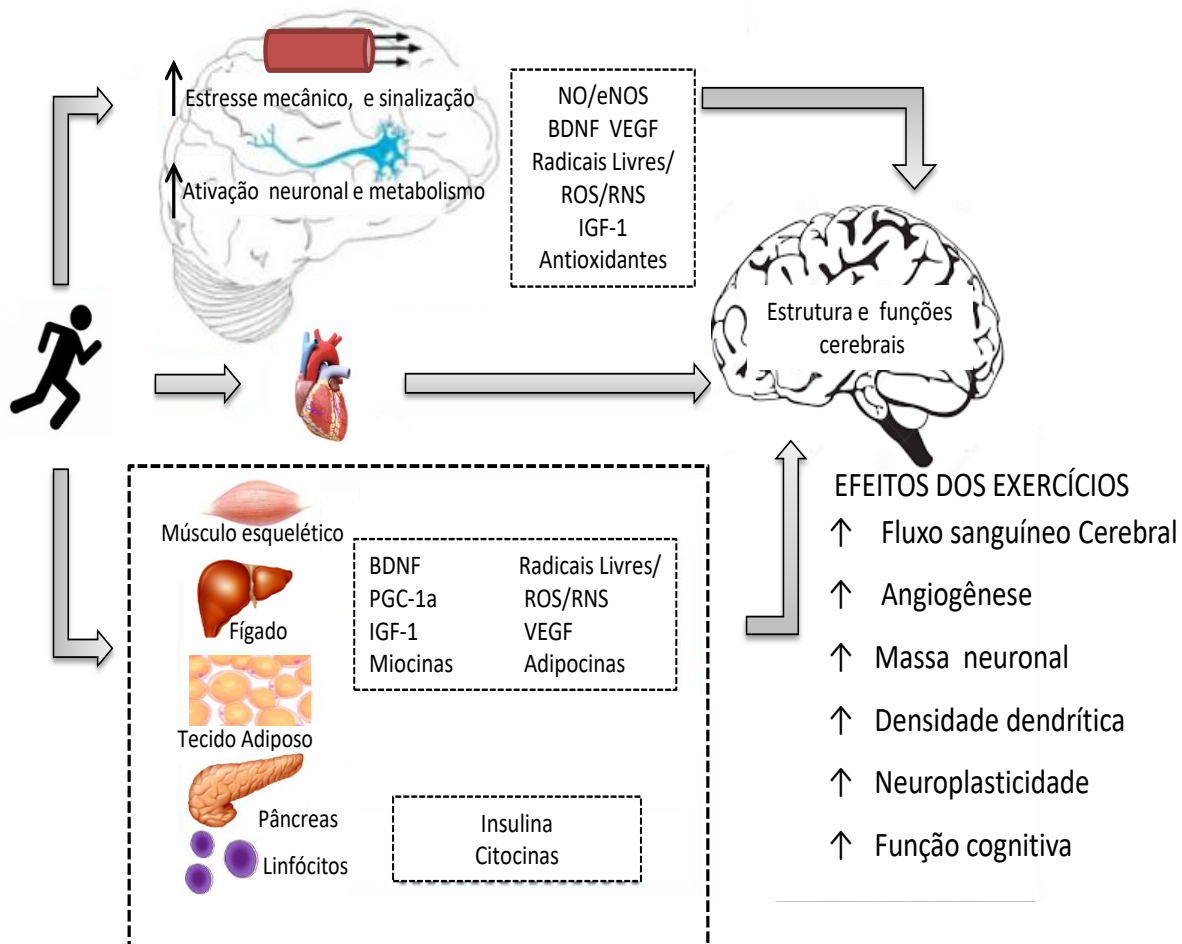
Diante do contexto de avaliação dos efeitos do treinamento sobre a função cerebral no modelo animal, é importante considerar o tipo de exercício empregado, se foi forçado (corrida em esteira elétrica, natação, exercício resistido), ou voluntário, realizado na roda de correr. O treinamento forçado submete o animal a um estresse, pelo fato do mesmo ter que reagir a uma situação não natural<sup>24</sup>. Já foi observado que o treinamento voluntário por sete semanas na roda de correr promoveu aumento da neurogênese hipocampal. Essa adaptação na região hipocampal do giro denteado é fundamental para o processo de consolidação de memória, pois, pode apagar memórias velhas no hipocampo para manter a capacidade de armazenamento para novas memórias e favorecer a expressão gênica em várias regiões corticais<sup>43</sup>, em outras palavras, a neurogênese favorece o armazenamento de memórias no córtex. Os animais submetidos a um protocolo de HIIT por sete semanas não apresentaram melhora na neurogênese hipocampal quando comparados aos animais do grupo voluntário, podendo ser o volume de exercício, um dos responsáveis pelo incremento da neurogênese<sup>24</sup>, os animais do grupo voluntário percorreram distâncias superiores aos animais do grupo HIIT<sup>24</sup>.

Dentre os componentes modificados pelo exercício físico no sistema nervoso central, destacam-se os fatores de crescimento, a família das neurotrofinas (NT), pelo fato de serem importantes moduladores da sobrevivência e plasticidade neuronal<sup>44</sup>. Entre os fatores tróficos elevados no cérebro pelo exercício estão: fator de crescimento semelhante à insulina (*insulin-like growth factor*, IGF-I)<sup>45</sup>, fator de crescimento semelhante à fibroblasto (*fibroblast growth factor 2*)<sup>46</sup> e o BDNF<sup>44</sup>. A (Figura 2) mostra esquematicamente, os efeitos neurais do exercício.

O aumento de BDNF e das moléculas associadas à plasticidade neural têm sido o foco dos efeitos do exercício no cérebro, especialmente no hipocampo, área vital relacionada ao aprendizado e memória, bem como no córtex cerebral<sup>44</sup>. Em roedores, os exercícios aumentam a concentração de neurotrofinas no hipocampo, principalmente do BDNF<sup>47</sup>, elevam também as concentrações de IGF-1, VEGF e fator de crescimento do nervo NGF<sup>48</sup> (*nerve growth factor*). Os exercícios voluntários aumentam a neurogênese hipocampal por propiciarem entre outros efeitos, aumento da concentração de fatores tróficos. Além disso, já

foi mostrado que o exercício de baixa intensidade na esteira também aumentou a concentração de BDNF<sup>1</sup>.

Figura 2- Representação esquemática de efeitos neurais e sistêmicos provenientes da modulação promovida pelos exercícios físicos de intensidade leve e moderada.



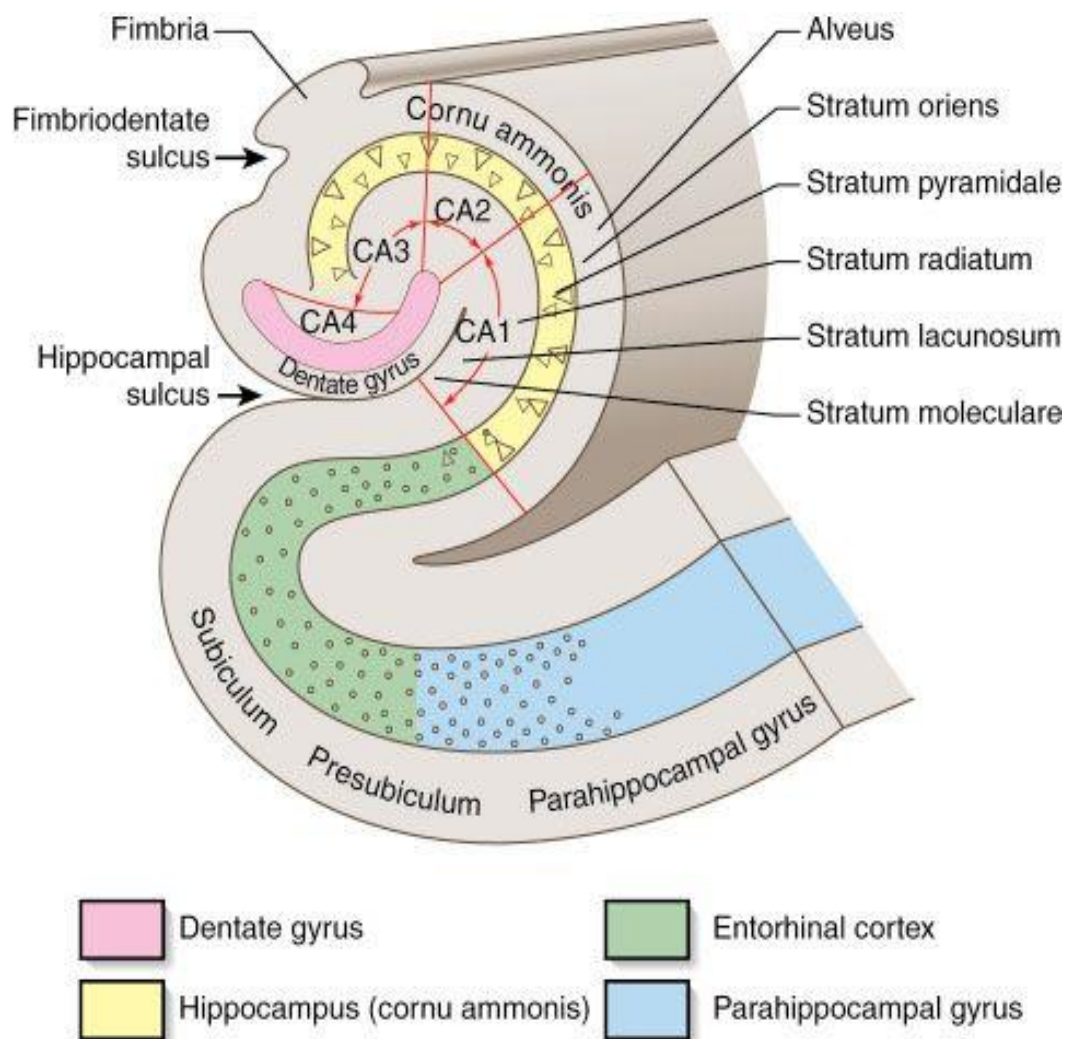
Fonte: Adaptado de Lucas et al.2015

NO (óxido nítrico), BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), VEGF: fator de crescimento do endotélio, IGF-I (fator de crescimento semelhante a insulina), ROS (espécies reativas de oxigênio), RNS (espécies reativas de nitrogênio).

O hipocampo está localizado entre os lobos temporais mediais<sup>41</sup>, contribuindo para os processos de aprendizagem e memória. Este é subdividido em giro denteado, Corno de Amón 1 (CA1), Corno de Amón 2 (CA2), Corno de Amón 3 (CA3) e Corno de Amón 4 (CA4) (Figura 3). O giro denteado é a única região com habilidade de gerar novos neurônios, a CA3 é importante para a separação de padrões de estímulos<sup>49</sup>. O hipocampo é altamente influenciado pelos exercícios físicos, que de acordo com os parâmetros utilizados promovem neurogênese<sup>24; 50</sup>, melhora do desempenho em testes de memória espacial<sup>42</sup>, não aumenta o

dano oxidativo e aumenta a atividade da enzima SOD<sup>51</sup>. Adicionalmente, ocorre proteção a peroxidação lipídica no hipocampo em animais treinados, em condições de hipoperfusão crônica<sup>13</sup>, além de modular mediadores neuroimunes em ratos idosos, diminuindo a concentração de IL-1 $\beta$ <sup>9; 13</sup>.

Figura 3- Ilustração esquemática do hipocampo e suas regiões em corte sagital



Fonte: <http://medicine.academic.ru/3923/Hippocampus>

O hipocampo é uma estrutura em forma de C, no assoalho do corno temporal do ventrículo lateral. Subdivide-se em Corno de Amon (CA1-CA4), as outras regiões são o giro dentado, complexo subicular e o córtex entorrinal. O hipocampo recebe grande quantidade de informação sensorial, e o córtex entorrinal as áreas neocorticais associativas<sup>52</sup>.

Apesar dos benefícios do treinamento físico de intensidade leve e moderada sobre a função neural, o exercício de alta intensidade contínuo pode gerar dano cognitivo por

modificar o estado redox, prejudicando as defesas antioxidantes<sup>16</sup>, diminuindo a concentração de RNAm para BDNF, VEGF e NMDA<sup>15</sup>, além de reduzir as concentrações das moléculas PSD-95 e sinapsina-I, estas moléculas associadas a cascata de sinalização do BDNF<sup>1</sup>. Este tipo de modalidade de treino aumenta as concentrações de corticosterona, prejudicando a formação de memória e o desempenho em tarefas comportamentais<sup>53</sup>.

### 3.2 Exercício Físico e Estado Redox

O exercício físico é capaz de propiciar a homeostase redox nos sistemas corporais<sup>54</sup>. A homeostase redox é um estado de equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) e a capacidade antioxidante endógena<sup>55</sup>.

As ERONs compreendem tanto os radicais livres que são definidos como átomos, íons ou moléculas que contém oxigênio com um elétron não pareado na camada eletrônica externa, bem como produtos não-radicalares que são potentes agentes oxidantes e participam nas reações de radicais livres<sup>56</sup>. São exemplos de ERONs o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), oxigênio *singlet* ( $\text{O}_2^*$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}\cdot$ )<sup>57</sup> radical hidroxil ( $\text{OH}\cdot$ ), e o radical semiquinona ( $\text{Q}\cdot$ )<sup>58</sup>.

As ERONs participam de processos fisiológicos, tais como os mecanismos de defesa dos fagócitos contra agentes infecciosos, a indução da resposta mitogênica, o controle do tônus vascular, entre outros<sup>59; 60</sup>. Quando há, porém, uma produção excessiva de ERONs, e uma deficiência nos sistemas antioxidantes, estas reagem com as biomoléculas celulares, tais como lipídios, proteína e DNA<sup>57</sup> na tentativa de parear seus elétrons e restaurar sua estabilidade para os radicais livres<sup>7</sup>. Dentre as macromoléculas que podem sofrer o dano estão os lipídios de membrana, pelo processo de peroxidação que consiste de três etapas iniciação, propagação e terminação<sup>61</sup> este processo resulta em aumento da permeabilidade o que pode conduzir a perda de integridade estrutural e suas funcional das células<sup>62</sup>.

Para evitar ou restaurar os danos promovidos por ERONs, o corpo possui dois sistemas de defesa antioxidante: os enzimáticos e não enzimáticos. O sistema antioxidante enzimático é composto pela SOD, que é a primeira linha de defesa<sup>63</sup>, e constitui a defesa celular contra os radicais superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), que catalisa a dismutação do  $\text{O}_2^{\bullet-}$  em água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Outra enzima envolvida é a CAT, que tem como função catalisar a decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  em água e oxigênio molecular. A glutathione peroxidase (GPX) catalisa a redução do  $\text{H}_2\text{O}_2$  à água, utilizando a glutathione em sua forma reduzida (GSH) como doador de elétron e selênio (Se) como co-fator. Após exposição da

GSH ao agente oxidante, ocorre sua oxidação a GSSG. A recuperação da GSH é feita pela enzima glutathione redutase (GRd), uma etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular<sup>64</sup>. O sistema antioxidante não-enzimático é composto por substâncias, tais como ácido ascórbico<sup>65</sup> vitamina E ( $\alpha$ -Tocoferol), vitamina A e ácido úrico, entre outros<sup>66</sup>, o mecanismo antioxidante acontece pela redução do íon  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . esta redução pode ser detectada pelo ensaio intitulado *ferric reducing ability of plasma* (FRAP)<sup>66</sup>.

O cérebro, devido à alta demanda energética necessária para desempenhar suas funções, é particularmente vulnerável a produção de EROs; corresponde a 2% da massa corporal total e metaboliza 20% do oxigênio com uma capacidade antioxidante limitada<sup>67</sup>. Dessa maneira fica suscetível à peroxidação lipídica, que é uma reação em cadeia nas membranas celulares, desencadeada pelos radicais livres. Esta reação é utilizada como indicador de lesão celular<sup>68</sup>.

Além disso, as diferentes regiões cerebrais apresentam diferenças em suas capacidades antioxidantes, e, portanto, respondem de maneira distinta a insultos, tais como, isquemia seguida de reperfusão. O hipocampo, por exemplo, é particularmente suscetível a dano isquêmico, sendo que os neurônios piramidais da região CA1 podem sofrer morte tardia seletiva muito dias após o insulto, apresentando aumento da peroxidação lipídica por períodos temporais prolongados, comparado ao córtex e corpo estriado. Além disso, em relação ao sistema antioxidante hipocampal foi observado aumento da atividade da SOD e redução da atividade do sistema glutathione, após insulto isquêmico seguido de reperfusão<sup>69</sup>.

Ademais, os resultados de trabalhos que avaliaram os efeitos do exercício físico não observaram desequilíbrio redox no hipocampo após duas semanas de exercício moderado na esteira<sup>70</sup>. Em períodos de treinamento com maior duração, 15 semanas de treinamento com intensidade moderada, em ratas idosas em esteira, houve aumento das atividades das enzimas antioxidantes, glutathione peroxidase e SOD, bem como diminuição da peroxidação lipídica hipocampal<sup>71</sup>. Em adição, o efeito neuroprotetor do treinamento de intensidade moderada em roedores ficou evidente ao se constatar que 12 semanas de treino previniram a peroxidação lipídica hipocampal, além de aumentar o conteúdo basal de tióis no substrato, estes são agentes antioxidantes que protegem as células das consequências do dano oxidativo<sup>13</sup>.

Embora haja essa maior susceptibilidade cerebral, foi demonstrado que o treinamento em piscina, com duração de 9 semanas, cinco vezes por semana e tempo da sessão de 60 minutos e nas três semanas finais de 90 minutos, foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica em ratos jovens (4 semanas) e de meia-idade (14 meses de idade) comparados aos respectivos grupos controle no cérebro inteiro<sup>7</sup>. Adicionalmente, esta diminuição do desequilíbrio redox

cerebral por meio do exercício físico também apresenta impactos positivos em condições de injúria cerebral. Demonstrou-se, por exemplo, que um programa de treino de natação prévio a uma isquemia em fatias de córtex cerebral levou a diminuição da peroxidação lipídica<sup>72</sup>. Sabe-se ainda que a homeostase redox impacta positivamente o desempenho em tarefas cognitivas, como observado em ratos wistar, submetidos a 8 semanas de treinamento regular, que apresentaram melhora da memória e redução da concentração de EROs no conteúdo cerebral. Contudo, após 8 semanas de destreinamento, os animais não mantiveram essa melhora obtida pelo treinamento no teste de memória e apresentaram redução na concentração de neurotrofinas<sup>8</sup>.

Contudo, já foi demonstrado que o exercício de alta intensidade aumenta a peroxidação lipídica no conteúdo cerebral de camundongos C57/BL6<sup>17</sup>. Um dos produtos da peroxidação lipídica o 4-hydroxyneal, é um dos ativadores de *tool like receptors* (TLRs). As células neuronais na ausência da expressão dos receptores TLR2 e TLR4 tem menor índice de morte por privação energética. Porém, em animais que apresentam algum distúrbio neuroinflamatório, por exemplo, a doença de Alzheimer há um desequilíbrio redox, que está associado ao aumento da expressão de TLRs, o que aumenta a ocorrência de morte neuronal<sup>73</sup>.

### 3.3 Exercício e Citocinas

As citocinas são proteínas de sinalização celular, secretadas para promover homeostase do organismo, e também mediar uma resposta do sistema imunológico a uma lesão, regulando diversas etapas do processo da inflamação. As citocinas são divididas em dois grupos as pró-inflamatórias, tais como, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 e citocinas antiinflamatórias tais como, a IL-10<sup>74</sup>. As respostas inflamatórias em curto prazo são adaptativas e essenciais à vida, contudo as respostas crônicas são prejudiciais. As citocinas pró-inflamatórias, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , produzem efeitos diretos na atividade neural<sup>74</sup>. O TNF- $\alpha$  é produzido por vários tipos de células em eventos inflamatórios, pode modular a proliferação de células neurais ou morte celular e tem um papel importante na poda sináptica<sup>75</sup>. Esta citocina é liberada majoritariamente por células do sistema imune que podem comunicar com o sistema nervoso central (SNC) afetando a atividade neural e modificando comportamentos<sup>76</sup>. Outras citocinas, tais como IL-1 $\beta$  e IL-6 também exercem efeitos na sobrevivência e proliferação neural, assim como na formação de sinapses<sup>75</sup>. A IL1- $\beta$  é uma proteína detectável nos axônios e na pericárdia, sintetizada no gânglio simpático. . Outra citocina pró-inflamatória que exerce efeitos sobre a função neural é a IL-6, dentre os efeitos o melhor descrito é a formação e

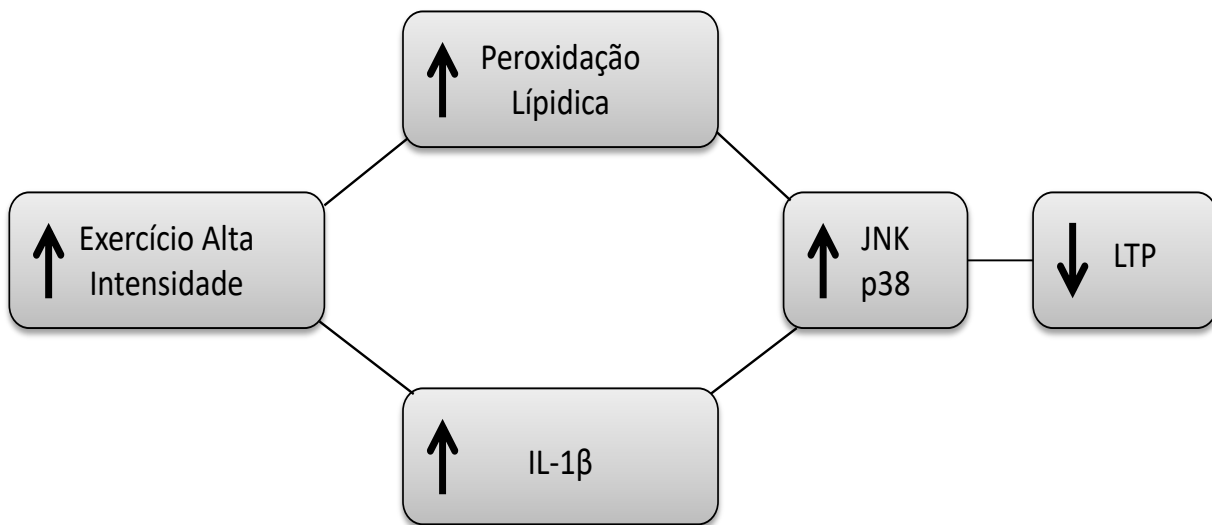
migração sináptica<sup>77</sup>. A citocina antiinflamatória IL-10 tem suas concentrações reduzidas com o envelhecimento, a redução da concentração da referida citocina leva ao aumento da IL-6<sup>78</sup>. Além disso, camundongos knockout para IL-10 são mais sensíveis a dano neuronal e déficits comportamentais<sup>79; 80</sup>.

Adicionalmente, doenças neurodegenerativas, tais como Parkinson e Alzheimer estão relacionados com concentrações aumentadas de citocinas pró-inflamatórias<sup>81</sup>. A literatura científica mostra que o aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias resulta em piora da potenciação de longo prazo (LTP), por aprimorar a atividade de ERONs e de proteínas quinases<sup>82</sup>.

Os exercícios aeróbios em esteira a uma velocidade de até 15 m/min aumentaram a concentração da IL-10<sup>78</sup>. Dentre os efeitos antiinflamatórios dos exercícios estão o aumento da concentração de neurotrofinas, que são proteínas sintetizadas tanto por neurônios quanto células da glia permitindo que os neurônios recebam uma nutrição adequada para o crescimento e desenvolvimento deles<sup>78</sup>. A estimulação de neurônios com o NGF e BDNF promove a liberação de IL-10<sup>78</sup>.

Foi observado que, sete semanas de exercícios na esteira propiciaram a redução da resposta pró-inflamatória hipocampal em ratos submetidos a privação de sono, evidenciada por concentrações menores dos mediadores TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6<sup>83</sup>. Da mesma forma, o exercício voluntário mostrou benefícios como a redução da concentração da IL-1 $\beta$  no hipocampo de ratos, associada a aumento da neurogênese e melhora do desempenho em tarefa de reconhecimento espacial no labirinto aquático<sup>9</sup>. Contudo, o exercício de alta intensidade prejudicou o desempenho cognitivo, piorou a LTP no hipocampo de ratos Sprague-Dawley, aumentou a concentração de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  na região CA1 do hipocampo, por aumentar a fosforilação de JNK/p38/ERK e consequentemente induzir a resposta inflamatória neuronal<sup>84</sup>, como esquematizado na (Figura 4).

Figura 4- Representação das alterações neuroquímicas no hipocampo em animais submetidos a exercício de alta intensidade e sua relação com a memória.



Fonte: Adaptado de Sun et al.2015 e O Donnel, 2000.

O exercício de alta intensidade, promove aumento da peroxidação lipídica e concentração de mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$ , estas alterações conjuntamente aumentam a atividade das quinases JNK (c-Jun-N-terminal quinase) e p 38 quinase, tais modificações, conduzem a diminuição da LTP que é um fenômeno eletrofisiológico associado a consolidação de memória.

### 3.4 Treinamento Intervalado de Alta Intensidade e Função Cerebral

Uma modalidade que vem ganhando popularidade entre os não atletas atualmente, é o HIIT, que é caracterizado por períodos breves e repetidos de exercício intenso, próximo a 100% da capacidade máxima do indivíduo e que são intercalados por períodos de repouso ou exercício de baixa intensidade<sup>21; 85</sup>. Essa modalidade de treinamento é normalmente associada com corrida ou ciclismo e não induz uma hipertrofia considerável<sup>86</sup>.

Neste contexto, o HIIT é considerado uma intervenção tempo eficiente para melhora do condicionamento aeróbico em poucas sessões de treinamento<sup>87; 88</sup>. O HIIT não é só mais uma possibilidade de treinamento físico em indivíduos saudáveis que buscam melhorar o desempenho, Mas também é efetivo em melhorar o controle glicêmico em indivíduos com diabetes do tipo 2<sup>89</sup>, através do aumento da expressão de GLUT-4 e da sensibilidade à insulina<sup>88</sup>. Além disso, o HIIT pode ser uma estratégia com boas possibilidades de adesão para pacientes pré-diabéticos em curto prazo, tendo em vista que a adesão em programas de atividade física é uma medida importante para a prevenção de diabetes e doenças cardiovasculares, diminuindo a rigidez arterial periférica<sup>88</sup>. Entre outras adaptações desencadeadas por esse tipo de treinamento encontram-se o estímulo à biogênese mitocondrial e a atividade de enzimas oxidativas<sup>88; 90</sup>.



Embora os benefícios do HIIT publicados recentemente demonstrem o impacto positivo em diversos sistemas biológicos, na sua maioria em humanos <sup>89; 91</sup>, há poucos trabalhos publicados apontando seus benefícios sobre o sistema nervoso central, tendo roedores como modelo experimental.

O HIIT na piscina tanto de curta duração (6 semanas) e de longa duração (12 semanas) promoveram adaptações metabólicas, tais como, o aumento na concentração de glicogênio no gastrocnêmio e fígado. Após seis semanas de HIIT promoveram aumento da concentração de corticosterona, contudo 12 semanas culminaram na redução da concentração de corticosterona<sup>92</sup>. Outro trabalho mostrou que 6 semanas de HIIT e suplementação com vitamina E induziram a redução de IL-6 e TNF- $\alpha$  em sangue coletado por punção cardíaca<sup>93</sup>. Um protocolo de HIIT de 6 semanas foi capaz de aumentar significativamente as concentrações de BDNF, GDNF, TNF $\alpha$ , bem como elevar a produção de peróxido de hidrogênio no conteúdo cerebral total, quando comparado aos grupos exercício aeróbio contínuo e sedentário<sup>26</sup>. Por outro lado, o estudo de Nokia e colaboradores observou que o HIIT durante sete semanas não foi capaz de aumentar a neurogênese hipocampal em ratos da linhagem Sprague-Dawley, possivelmente por ser um exercício forçado e que consequentemente aumenta as concentrações de corticosterona, evitando alguns efeitos benéficos dos exercícios, tal como o aumento da neurogênese.

O HIIT promove alterações em alguns parâmetros da homeostase redox, altera concentrações de parâmetros neurotróficos e inflamatórios, contudo, ainda não se conhece os efeitos do HIIT no desempenho em tarefas funcionais. Dessa forma, para a melhor compreensão dos efeitos desta modalidade é importante avaliar se o HIIT é capaz de alterar parâmetros da homeostase redox, bem como o balanço de mediadores pró-inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) e antiinflamatório (IL-10) e as concentrações de BDNF em regiões específicas, tais como, hipocampo e córtex cerebral, concomitante à avaliação do desempenho em tarefas de memória. Dessa forma, será possível compreender se essa modalidade pode ou não, ser considerada segura, tendo em vista que os exercícios de intensidade moderada e baixa favorecem a função cerebral e a alta intensidade contínua pode prejudicá-la.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Foram utilizados 39 ratos machos Wistar com idade de 8 semanas ao início do estudo, oriundos do Centro de Bioterismo da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO-UFGM *vivarium*). Os animais foram mantidos em condições ambientais controladas (temperatura  $22 \pm 2^{\circ} \text{C}$ , umidade de 40-50%, ciclo claro escuro 12-12h) e livre acesso a alimentação e água. O estudo foi submetido previamente a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFVJM) e aprovado sobre o número de protocolo 031/2015 (ANEXO A). Todos os experimentos foram conduzidos de forma a evitar o sofrimento dos animais e de minimizar o número de animais utilizados.

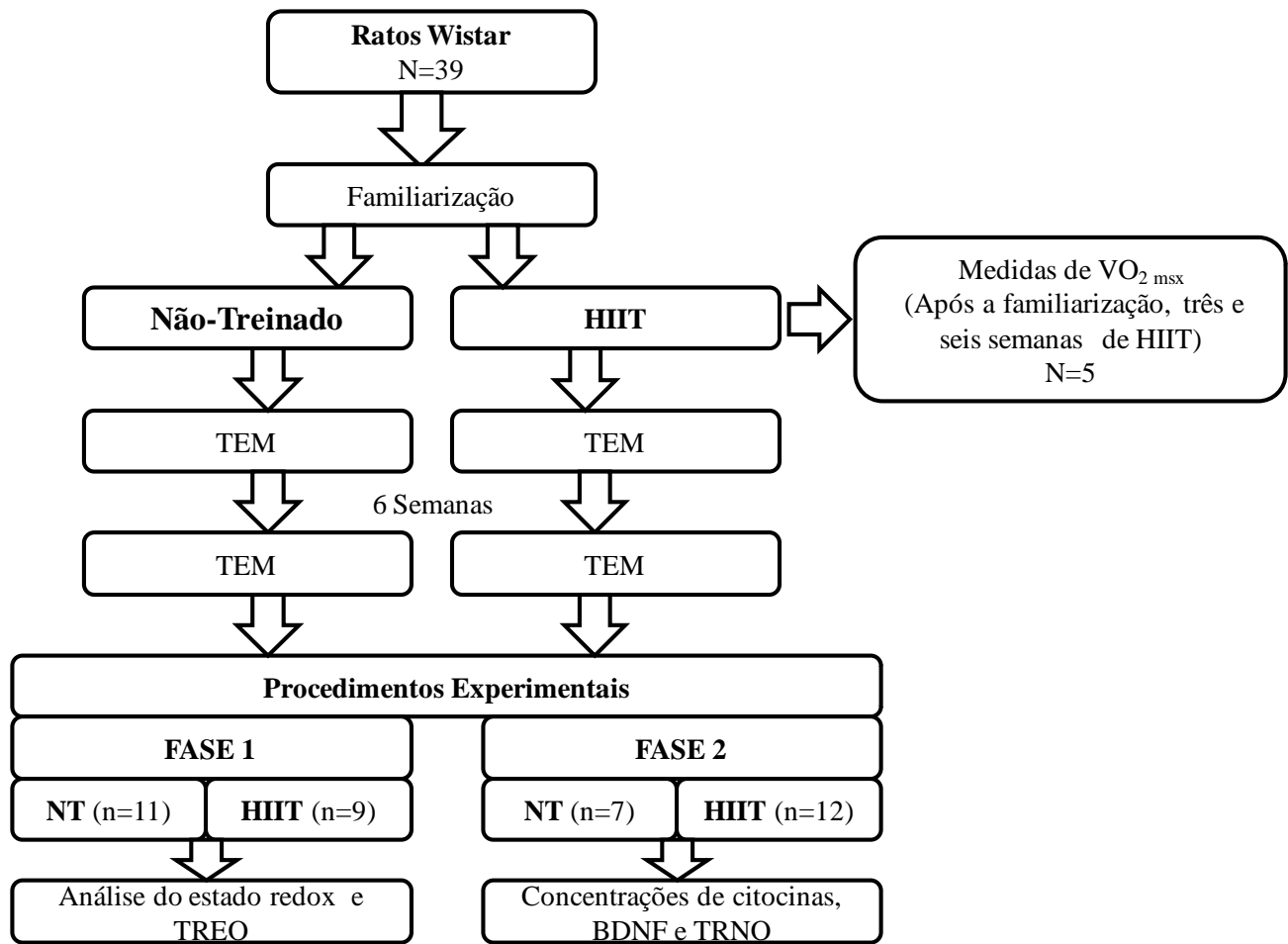
### 4.2 Desenho Experimental

O desenho experimental foi dividido em dois experimentos conforme descrições a seguir:

**FASE 1:** Avaliar o impacto de 6 semanas de HIIT na tarefa de reconhecimento espacial de objeto e análise de parâmetros do estado redox no hipocampo e córtex cerebral (n=20).

**FASE 2:** Investigar o impacto de 6 semanas de HIIT na tarefa de reconhecimento de novo objeto e sobre parâmetros neuroimunes, tais como as concentrações de mediadores pró-inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6)<sup>74</sup>, e do mediador antiinflamatório IL-10<sup>74</sup>, e a concentração de BDNF no hipocampo e córtex cerebral (n= 19). O delineamento experimental do presente estudo está representado na (Figura 5).

Figura 5- Representação esquemática do desenho experimental.



TEM = (teste de esforço máximo), NT = (não-treinado), HIIT = (treinamento intervalado de alta intensidade), BDNF = (fator neurotrófico derivado do cérebro), TREO = (tarefa de reconhecimento espacial de objeto), TRNO = (tarefa de reconhecimento de novo objeto).

#### 4.3 Protocolos de Esforço Máximo e Treinamento Intervalado de Alta Intensidade

A familiarização e o treinamento foram realizados em uma esteira de 6 baias (Insight®). Os ratos foram familiarizados com o exercício na esteira na velocidade de 10m/min a 0° de inclinação 10 minutos diários, por 5 dias consecutivos. Após o término do período de familiarização os animais foram divididos de forma aleatória em 2 grupos: não-treinados (NT) e grupo treinado (HIIT), ambos submetidos a um teste progressivo de esforço máximo.

No teste progressivo os ratos iniciaram o exercício a uma velocidade de 10m/min, 10° de inclinação e a velocidade na esteira aumentada 1m/min a cada 3 minutos. A fadiga foi definida como o ponto no qual o animal não conseguia manter o passo<sup>94</sup>. O teste foi realizado antes e após o término do treinamento a fim de verificar o desempenho físico destes animais.

A carga de trabalho foi utilizada como índice de desempenho. A carga de trabalho (Kgm) foi calculada  $(Kgm) = \text{peso corporal}(kg) \times \text{velocidade (m/min)} \times \sin 10^\circ$ .

Parte dos animais pertencente ao grupo HIIT foi submetido ao mesmo teste de esforço máximo, porém na câmara de medida de gases, afim de determinar a velocidade de treinamento a partir da média que correspondesse (85 a 100%  $\text{VO}_2$  máx). O  $\text{VO}_2$  máx foi determinado durante o teste progressivo de esforço por meio de calorimetria indireta em cinco de nove animais do grupo HIIT da fase 2. O  $\text{VO}_2$  foi registrado ao longo do treino, sendo o  $\text{VO}_2$  máx considerado quando o animal não conseguiu manter o passo<sup>94</sup>, e permanecer por 5 segundos na grade de choque. Realizou-se outro teste após 3 semanas de treinamento para fins de adequação da velocidade média de treinamento, haja vista que adaptações ao treinamento poderiam ter ocorrido neste período, e também após 6 semanas para avaliar o efeito do treinamento na variável  $\text{VO}_2$  máx.

O HIIT foi realizado com aumento progressivo da velocidade e do número de estímulos conforme descrito na Tabela 1. O protocolo de treinamento utilizado adaptado de estudos prévios: A caracterização da familiarização e frequência semanais de treinos<sup>26</sup>, duração dos treinos<sup>23</sup> e as características temporárias do estímulo<sup>22</sup>. Os ratos foram submetidos a um estímulo curto de alta intensidade (1 minuto) na esteira<sup>22</sup> com inclinação de  $10^\circ$  e velocidade correspondente a 85 a 100% do  $\text{VO}_2$  máx aproximadamente, alternando com 2 minutos de recuperação ativa na esteira sem inclinação, com velocidade de 10m/min correspondendo a aproximadamente 60% do  $\text{VO}_2$  máx. Os animais correram em baias paralelas na mesma esteira, e se os animais apresentassem redução na velocidade ou parassem de correr, estes eram estimulados gentilmente a correr novamente. Todos os animais foram monitorados durante todo o tempo de treinamento. Ao longo do período de treinamento a sobrecarga foi imposta por aumento de velocidade e duração dos treinos, visando corresponder 85 a 100% do  $\text{VO}_2$  máx. Além disso, os animais foram semanalmente pesados, para observar adaptações metabólicas decorrentes do treinamento. O grupo NT foi transportado diariamente para a sala de treinamento e colocado na esteira desligada pelo mesmo período de treino para ser exposto ao mesmo ambiente que o grupo HIIT.

Tabela 1: Descrição do protocolo de treinamento intervalado de alta intensidade

Semanas	Números de estímulos	Duração do estímulo (min)	Velocidade do estímulo (m/min)	Duração da total da sessão (min)
1	10	1	20	30
2	11	1	20	33
3	12	1	22	36
4	13	1	24	39
5	14	1	26	42
6	15	1	28	45

Obs: Recuperação ativa de 2 min entre cada estímulo

#### 4.4 Preparação dos tecidos

Os ratos foram eutanasiados por decapitação sob efeito de anestesia (Ketamina 60-80 mg/Kg e Xilazina 8 mg/kg IP) 72 horas após a última sessão de teste de esforço máximo, para evitar erros de interpretação devido aos efeitos remanescentes da última sessão de exercício. O cérebro inteiro foi removido rapidamente em aproximadamente 1 minuto e submerso em tampão fosfato (50mM pH= 7,4) para remover o excesso de sangue superficial. Em seguida o córtex cerebral e os hipocampus foram dissecados e armazenados em microtubos plásticos para análise do estado redox e mediadores inflamatórios. Em seguida foram extraídas as glândulas suprarrenais dos animais de ambos os grupos e feita a pesagem do tecido fresco, para permitir uma análise indireta da ativação do eixo (hipotálamo-hipófise-adrenal)<sup>95</sup>.

#### 4.5 Preparo das Amostras para análises do estado redox

Para realizar os ensaios do estado redoxos tecidos foram homogeneizados em PBS a 10g/30mL (p/v) contendo 140 mM de KCl (pH= 7,4) e centrifugado a 10000g por 10 minutos para coletar o sobrenadante utilizado para as análises de enzimas antioxidantes. A outra fração da amostra foi centrifugada a 5000g por 5 minutos para análise da peroxidação lipídica e da capacidade antioxidante total (não-enzimática) por meio da técnica *ferric reducing ability of plasma* (FRAP). Os homogenatos foram coletados a partir do sobrenadante e acondicionados em microtubos e mantidos em ultra-freezer – 80°C até a realização dos ensaios para verificar a homeostase redox.

#### 4.5.1 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A peroxidação lipídica tem como principal produto o malondialdeído (MDA), sendo que uma forma de medir o dano causado nas membranas celulares é por meio da reação ao ácido tiobarbitúrico com o MDA de acordo com o método descrito por Okhawa e colaboradores (1979)<sup>96</sup>. Às alíquotas dos substratos de córtex cerebral e hipocampo utilizados em cada amostra para leitura foram (0,2mL) adicionados os reagentes: (0,25mL de ácido acético (2,5 M pH 3,4), 0,25mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,8%) , 0,1mL de doadecil sulfato de sódio (SDS) e 0,2mL de água deionizada, resultando em um volume final de 1,0 mL. A mistura foi incubada por 90 minutos a temperatura de aproximadamente 95°C e depois centrifugada por 5 minutos a 5000 xg (Jouan BR4i, Thermo Fischer Scientific, EUA). O sobrenadante da reação foi analisado em duplicata no leitor de microplacas (Spectra Max 190, Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA) à 532 nm. A concentração de TBARS foi estimada a partir da curva de concentrações conhecidas de malondialdeído (1,1,3,3-tetramethoxypropane) (Sigma, EUA) como padrão externo. A quantidade de MDA produzido foi interpretada como a concentração de TBARS. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/mg de proteína.

#### 4.5.2 Determinação da Atividade da SOD

A atividade da enzima SOD foi avaliada pelo método descrito por Srivastava (2007) adaptado<sup>97</sup>. Foi realizada uma mistura composta pelo homogenato do substrato do córtex cerebral ou hipocampo com o tampão fosfato de potássio (TFK) (50 mM, pH 8,2) contendo 1mM de ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA). As amostras e o tampão foram aquecidos a 37°C e a reação foi iniciada com adição de 0,02 mM de pirogalol (Sigma, EUA). A oxidação do pirogalol foi medida em 420 nm no leitor de microplacas (Spectra Max 190, Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA) por 260 segundos (s) com intervalo de 10 s entre as leituras de absorbâncias, sendo registrados os valores da absorbância da amostra em 10 e 250s, a diferença da absorbância entre 250s e 10s corresponde à auto-oxidação do pirogalol. A unidade de enzima é considerada como a quantidade que causou a inibição de 50% da auto-oxidação do pirogalol e foi definida como uma unidade (U) de SOD. O resultado foi expresso em U/mg de proteína.

#### 4.5.3 Determinação da Atividade da Catalase

A atividade da CAT foi medida conforme proposta por Nelson e Kiesow (1972)<sup>98</sup>, consistindo na metabolização do peróxido de hidrogênio, evidenciada pelo decaimento da

absorbância em espectrofotômetro. As amostras e o tampão fosfato de potássio (TFK) 50mM, pH 7,0 foram mantidos em banho à temperatura de 25°C. Foi adicionado 5 uL de peróxido de hidrogênio (0,3M) como substrato da reação à mistura composta de 700uL de TFK e 30 uL de homogenatos de substratos neurais (córtex cerebral e hipocampo). A leitura foi realizada durante 1 minuto em temperatura de 25°C, sendo fornecida a medida de absorbância a cada 15s, a leitura das amostras foi realizada em duplicata em aparelho espectrofotômetro (Libra S22, Biochrom, UK). A atividade da catalase foi expressa em  $\Delta E/\text{min}/\text{mg}$  de proteína.

#### 4.5.4 Capacidade Antioxidante Total (FRAP)

A capacidade antioxidante total (não-enzimática) dos homogenatos foi estimada pelo poder antioxidante da redução do ferro, conforme proposta de Benzie e Strain 1996<sup>66</sup>. A redução do complexo  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ em  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ por antioxidantes não-enzimáticos presentes na amostra de tecidos neurais, apresenta uma coloração azulada que pode ser medida em leitor de microplacas. Para medir a capacidade antioxidante total, 72 uL de homogenatos dos substratos neurais foram acrescidos à 528uL de solução reagente FRAP. O referido reagente é composto por 25mL de tampão acetato (0,3 mol/L pH 3,6), 2,5mL TPTZ 10 mmol/L e 2,5 mL de  $\text{FeCl}_3$  20mmol/L. A mistura foi homogeneizada e incubada no escuro a 37°C por 30 minutos, e posteriormente foi resfriada por 10 minutos e centrifugada por 5 minutos a 300xg. As amostras foram analisadas em duplicata em espectrofotômetro (Spectra Max 190, Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA) a 595 nm. A capacidade antioxidante total foi estimada a partir da curva de concentração conhecida de  $\text{FeSO}_4$ . A capacidade antioxidante total da amostra foi expressa em micromolar de equivalentes de Fe II determinadas por concentrações conhecidas da curva padrão de  $\text{FeSO}_4$  (0,0156 a 0,0375 mM) e normalizada pela quantidade de proteína da amostra.



#### 4.6 Determinação da Concentração de Proteínas

O conteúdo de proteínas das amostras foi determinado através do método de determinação de proteínas descrito por Bradford<sup>99</sup>. Amostra de albumina de soro bovino (BSA) (1mg/mL) foi utilizada como padrão.

Em uma placa de 96 poços transparente com o fundo chato, foram pipetados 10uL em duplicata do branco (tubo 0), padrões e amostras, acrescidos 190 uL da solução de Bradford. As amostras precisaram ser diluídas 1:30 para as amostras do hipocampo e 1:50 para amostras do córtex. A leitura da concentração de proteínas foi feita no leitor de microplacas (Spectra Max 190, Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA) e os valores de proteína determinados pelo software SoftMaxPro( V5.4.1.) em mg/mL.

#### 4.7 Determinação da Concentração de Citocinas e BDNF

As concentrações de citocinas e BDNF foram medidas pelo método ELISA do inglês *enzymed-linked immunosorbent assay*. Os tecidos foram homogeneizados em solução de extração contendo 0,125 mL de NaCl (0,4 mM), Tween 20, 0,5% de albumina sérica bovina (BSA), PMSF (0,1mM), cloreto de benzetônio (0,1mM), EDTA (10 mM ) e 20 (KIU) de aprotinina, preparados em tampão fosfato. Os homogenatos dos substratos neurais foram centrifugados em 10000 xg por 10 minutos em temperatura de 4° C e o sobrenadante coletado e armazenado em ultra-freezer a - 80° C .

A determinação das concentrações das citocinas IL1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  foram realizadas usando kits específicos para as interleucinas (R&D Systems, Minneapolis, and Pharmingen, San Diego, Califórnia, USA) e para o BDNF (Elabscience Biotechnology, USA). Fez-se a diluição (1:3) de BSA em tampão fosfato usando o Kit de ELISA de acordo com as instruções do fabricante. Para a preparação da placa adicionou-se o anticorpo de captura, em seguida foi vedada e incubada em *overnight* a 4°C, posteriormente o conteúdo da placa foi descartado e a mesma lavada por 4 vezes utilizando o tampão de lavagem (1L de PBS 1x + 1000uL de Tween) e adicionou-se 200uL/ poço do tampão de bloqueio(PBS/BSA 1%).Posteriormente a placa foi incubada por 2 horas, retirado o conteúdo dos poços e lavados por 4 vezes com o tampão de lavagem.

Foi adicionado 0,1mL por poço das amostras e do padrão, a placa foi vedada e incubada em *overnight* a 4°C. Em seguida retirou-se o conteúdo da placa e lavado por 4 vezes com o tampão de lavagem. Após a lavagem foram acrescidos 0,1mL do anticorpo de detecção biotilado 55,5uL/10,5mL (em diluentes das amostras/PBS-BSA 0,1%) à placa. A mesma foi vedada e incubada a temperatura ambiente por 2 horas; repetiu-se o procedimento

de lavagem da placa, então foi adicionado 0,1mL por poço de estreptavidina-HRP (50uL em 10,5mL de diluentes da amostra à placa)e em seguida foi vedada e incubada a temperatura ambiente por 30 minutos, sendo novamente lavadas e adicionou-se 0,1 mL por poço do cromógeno OPD à placa, que permaneceu em temperatura ambiente por 20-30 minutos ao abrigo da luz. Na sequência, foram adicionados 50 uL por poço da solução *stop* (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M). A leitura foi realizada em 490 nm no leitor de microplacas (Spectra Max 190, Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA). As concentrações das citocinas e do BDNF foram calculadas usando a curva padrão e expressa em pg/mL.

#### 4.8 Tarefas Comportamentais

Após 48 horas do último teste de esforço máximo, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. A exploração ocorreu em uma arena de acrílico (50 cm x 50 cm x 40 cm), as paredes internas foram cobertas com papel preto para evitar estímulos visuais externos. O estímulo apresentado aos animais foram objetos de plástico ou vidro com forma, tamanho e cores variadas. Os objetos foram fixados na arena para evitar deslocamentos durante os testes. Para controlar odores na arena, os objetos foram limpos com água e álcool 70% e ventilados rapidamente entre os experimentos.

Os animais foram previamente familiarizados à caixa na ausência de estímulo específico por 20 minutos no dia anterior ao experimento. Os experimentos compreenderam uma fase de treino, seguidos pelo teste após 60 minutos, para avaliar a memória de curta duração. No intervalo entre o treino e o teste o animal permanecia na gaiola de propileno, a qual já estava acondicionado. O tempo de exploração durante a execução dos testes comportamentais foi definido pelo ato de cheirar ou tocar o objeto com o nariz ou os membros torácicos.

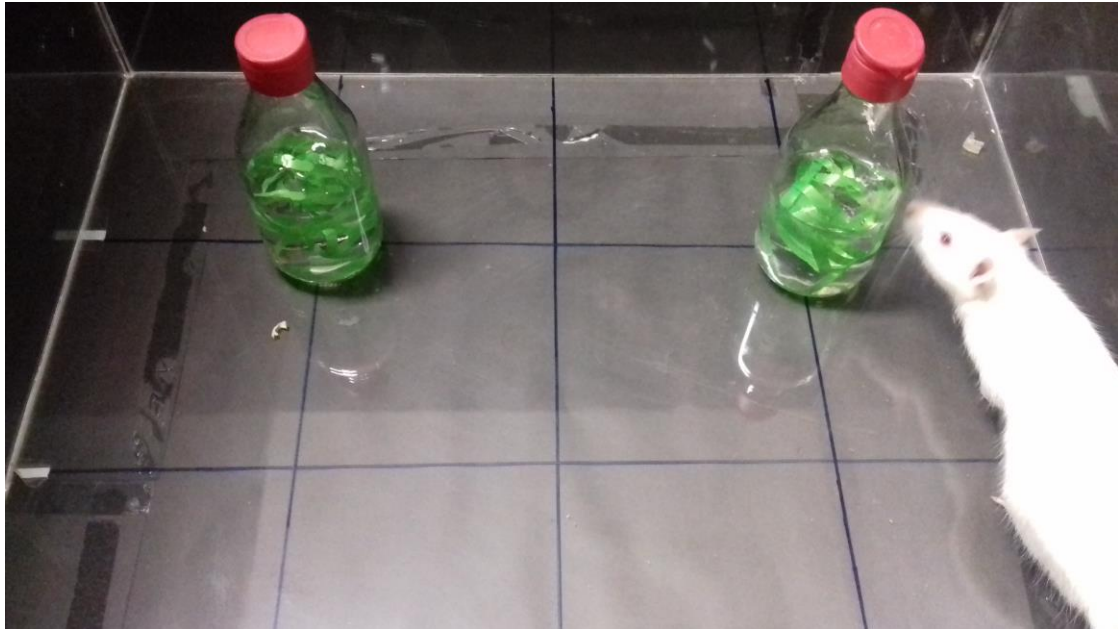
Um observador cego ao tratamento cronometrou o tempo gasto para exploração dos objetos, e o índice de reconhecimento foi calculado como o tempo que o animal explorou o objeto deslocado, dividido pelo total de tempo gasto explorando os dois objetos.

Nesta tarefa, os ratos foram expostos a uma fase de teste com dois objetos idênticos. Estes objetos foram os mesmos mostrados previamente na fase de treino, sendo um dos objetos deslocado para uma nova localização dentro da arena. O tempo de exploração dos objetos foi de 5 min <sup>100</sup>(Figura 6). No experimento 2, os animais realizaram a tarefa de reconhecimento de novo objeto. Semelhantemente à tarefa citada anteriormente, houve o momento treino e o teste, sendo que na fase de treino os animais foram expostos a objetos idênticos e no teste um destes objetos era trocado por um objeto novo. O resultado do teste foi

dados pelo índice de reconhecimento calculado da seguinte maneira: o tempo explorando o novo objeto, pelo tempo total de exploração de ambos os objetos<sup>2</sup>. Portanto, o índice de reconhecimento maior que 0.5 mostra que o animal percebeu o objeto deslocado ou o novo objeto (Figura 7).

Figura 6 - Ilustração da tarefa de reconhecimento espacial de objeto. Fase de treino (A) e Fase de Teste (B).

A

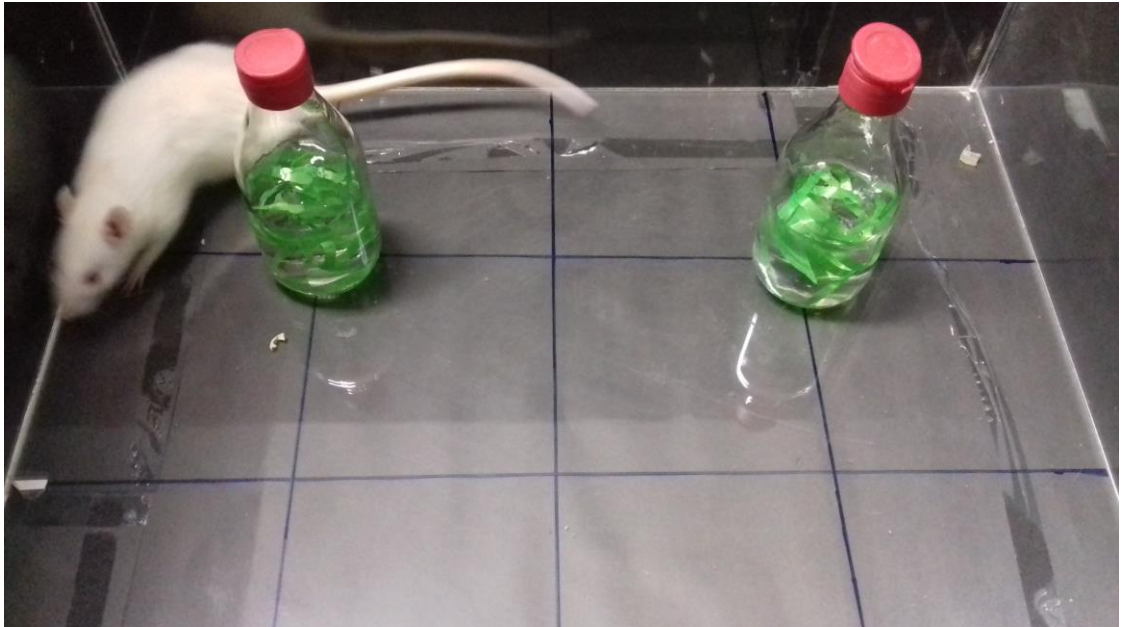


B

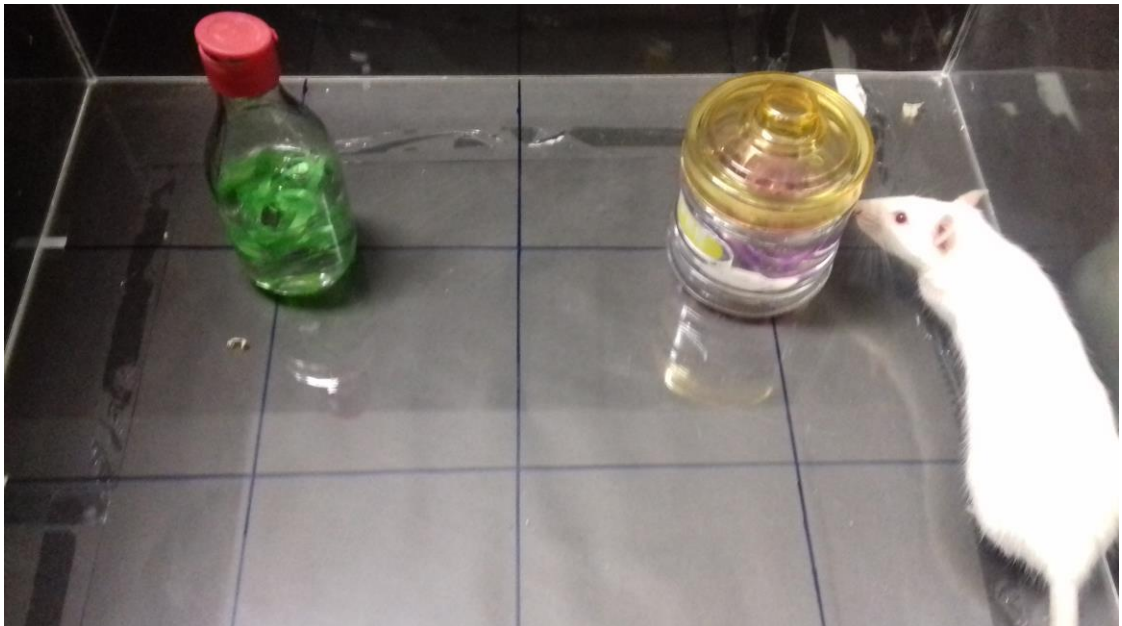


Figura 7- Ilustração da tarefa de reconhecimento de novo objeto. Fase de treino (A). Fase de teste (B).

A



B



#### 4.9 Análise Estatística

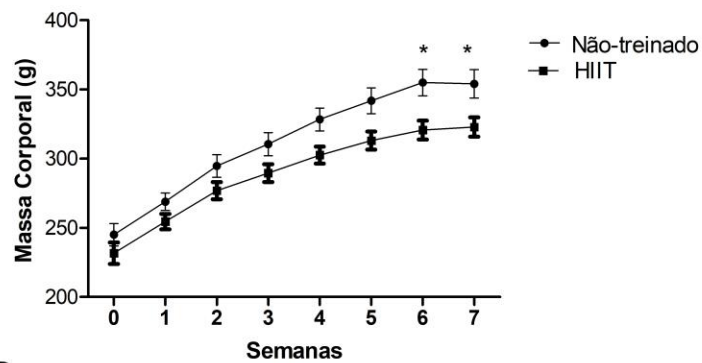
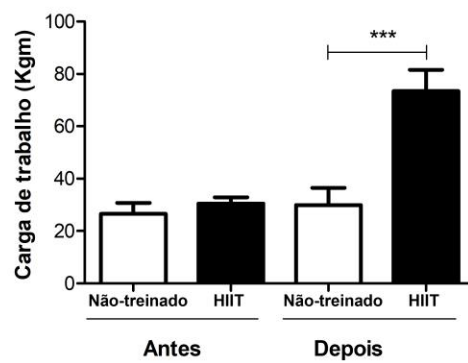
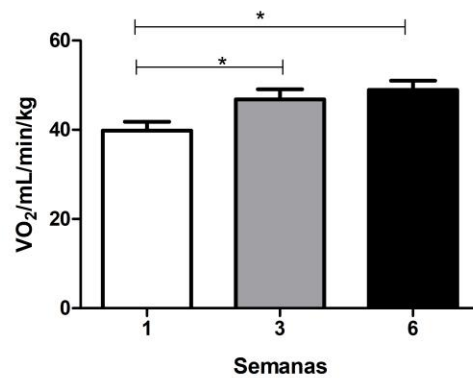
Para análise estatística foi utilizado o programa (GraphPad Prisma 5.0, USA), os dados estão apresentados como média e erro padrão da média (EPM). Foram utilizados: o teste t de Student não-pareado para as variáveis carga de trabalho, o estado redox, citocinas e BDNF. Nos testes comportamentais aplicou-se o one-sample teste T para avaliar se os animais exploraram o objeto deslocado na tarefa de reconhecimento espacial de objeto ou o novo objeto para a tarefa de reconhecimento espacial de objeto, o padrão populacional médio empregado foi de 0,5 para determinar a exploração durante as tarefas comportamentais. A comparação entre as medidas do índice de reconhecimento entre os grupos não-treinado e HIIT utilizou-se o ANOVA- two way seguida pelo pós-teste de Bonferroni. Para análise do  $VO_2$  máximo e comparação entre as semanas de realização do teste foi utilizado ANOVA one-way. Os valores  $p \leq 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos para os testes utilizados neste trabalho.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Massa Corporal e Adaptações ao Treinamento

A massa corporal dos animais aumentou progressivamente ao longo das semanas, contudo esta diferença foi significativa somente a partir da sexta semana de treinamento ( $p < 0,05$ ). Após seis semanas de treinamento, o grupo não-treinado apresentou peso médio ( $355 \pm 9,58\text{g}$ ) e o grupo HIIT um peso médio de ( $320,7 \pm 6,79\text{g}$ ). Assim como, no dia da eutanásia o grupo não-treinado ( $354,2 \pm 10,19\text{g}$ ) e o grupo HIIT ( $322,9 \pm 7,00\text{g}$ ) (Gráfico 1A). A adaptação ao protocolo de treinamento foi avaliada pelo teste de esforço máximo (Kgm). Assim, houve um aumento significativo na carga de trabalho no grupo HIIT quando comparado ao não-treinado ( $29,92 \pm 6,45\text{Kgm}$ ) e HIIT ( $73,42 \pm 8,15\text{Kgm}$ ) após 6 semanas de HIIT (Gráfico 1B). Outro parâmetro avaliado para adaptações ao treinamento foi o  $\text{VO}_2$  máximo em amostra do grupo HIIT, antes do treinamento ( $39,82 \pm 1,97 \text{ O}_2\text{ml/min/kg}$ ), após 3 semanas de treinamento ( $46,81 \pm 2,25 \text{ O}_2\text{ml/min/kg}$ ) e após as 6 semanas de treinamento ( $48,93 \pm 2,06 \text{ O}_2\text{ml/min/kg}$ )

Gráfico 1 - Efeitos de 6 semanas de HIIT em parâmetros metabólicos de ratos. A massa corporal (A), carga de trabalho (B), e o  $VO_2$  máximo em animais treinados. Os dados apresentados em médias  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os testes estatísticos empregados foram (A) Anova two-way,\*  $p \leq 0,05$  (B) teste T de Student \*\*\*  $p < 0,001$  (C) Anova one-way, \*  $p < 0,05$ .

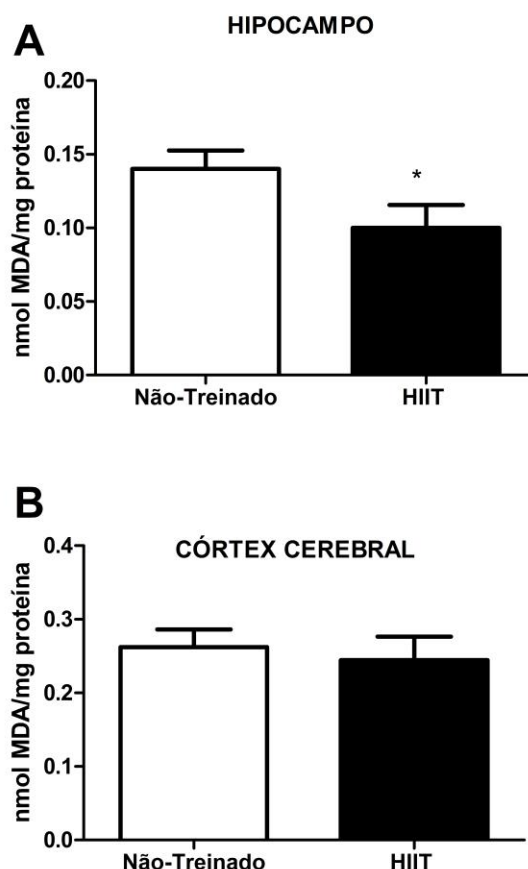
**A****B****C**



## 5.2 Peroxidação Lípidica TBARS

O conteúdo de TBARS foi avaliado para medir o dano oxidativo, evidenciado pela peroxidação lípidica hipocampal (Gráfico 2A) e no córtex cerebral (Gráfico 2B) após 6 semanas de HIIT. Foi observada menor concentração de TBARS no hipocampo do grupo HIIT quando comparado ao grupo não-treinado ( $0,14 \pm 0,01 \text{ nmolMDA/mg proteína}$ ) e HIIT ( $0,10 \pm 0,01 \text{ nmolMDA/mg proteína}$ ) ( $p < 0,05$ ), mas não foi observada diferença para o conteúdo de TBARS no córtex cerebral, grupo não-treinado ( $0,26 \pm 0,02 \text{ nmolMDA/mg proteína}$ ) e HIIT ( $0,24 \pm 0,03 \text{ nmolMDA/mg proteína}$ ). Estes dados indicam que o HIIT induz uma resposta compensatória ao dano oxidativo no hipocampo destes animais.

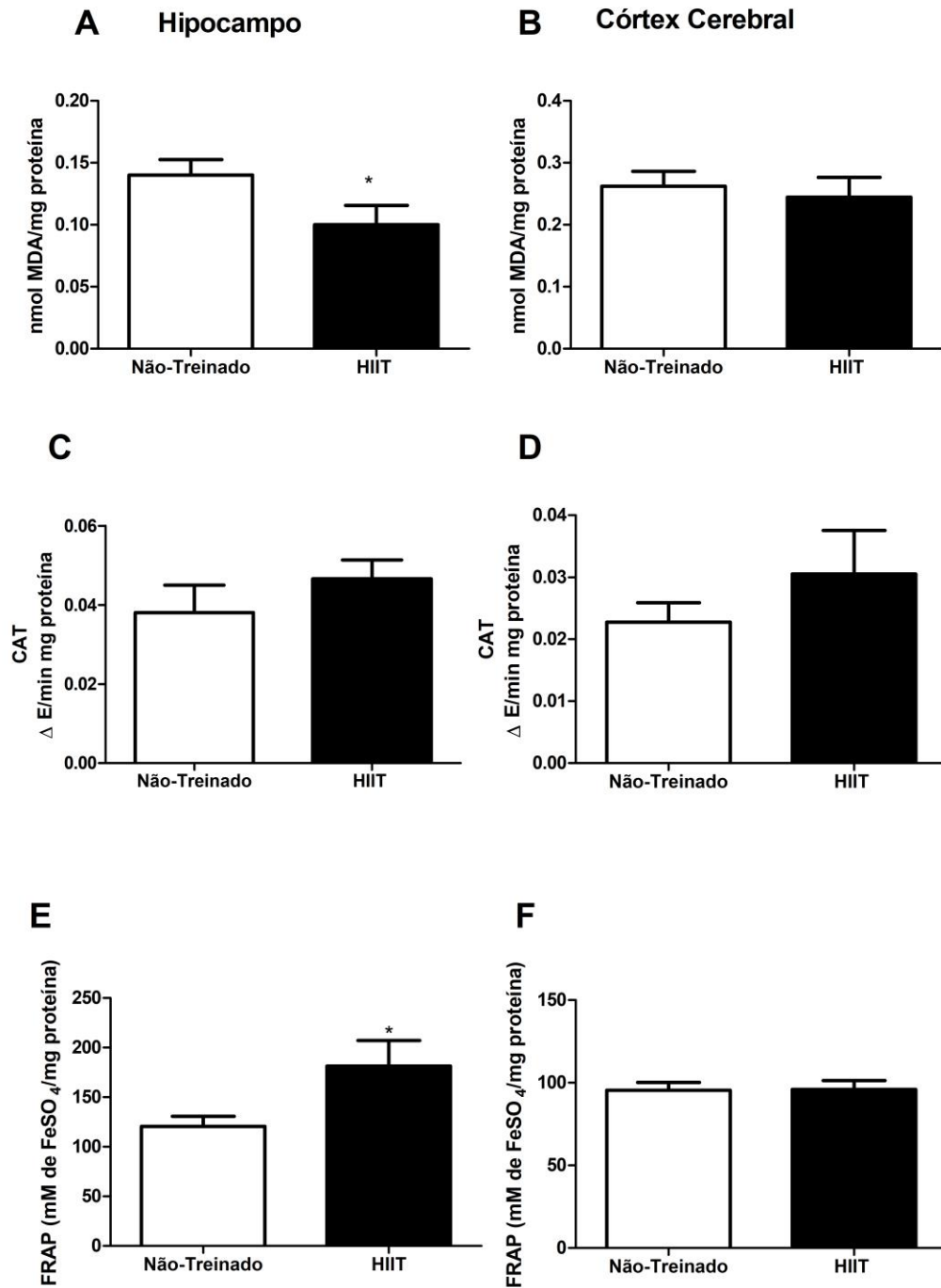
Gráfico 2 - Efeitos de 6 semanas de HIIT no conteúdo de TBARS no hipocampo (A) e córtex cerebral (B). Os dados foram apresentados em média  $\pm$  EPM. Grupo não-treinado ( $n = 11$ ) e HIIT ( $n = 9$ ),  $*p \leq 0,05$ .



### 5.3 Estado Antioxidante enzimático e não-enzimático

A avaliação dos sistemas antioxidantes enzimático, por meio da atividade das enzimas SOD e catalase, e não-enzimático (FRAP), revelou um aumento na atividade da enzima SOD no hipocampo dos animais que executaram o HIIT quando comparado ao grupo não-treinado ( $0,128 \pm 0,019$  U/mg de proteína) e o grupo HIIT ( $0,212 \pm 0,030$  U/mg de proteína) (Gráfico 3A), bem como aumento da capacidade antioxidante não-enzimática avaliada pelo método FRAP no hipocampo, o grupo não-treinado ( $120,5 \pm 10,18$  mM de  $\text{FeSO}_4$ /mg de proteína) e HIIT ( $181,3 \pm 25,88$  mM de  $\text{FeSO}_4$  /mg de proteína) (Gráfico 3E). Entretanto, a atividade da catalase não apresentou diferença entre os grupos, o não-treinado ( $0,038 \pm 0,006$ ) e HIIT ( $0,046 \pm 0,004$ ) (Gráfico 3C). No córtex cerebral, não houve diferença entre grupos para os parâmetros avaliados dos sistemas antioxidantes, atividade da SOD, grupo não-treinado ( $0,14 \pm 0,01$  U/mg de proteína) e HIIT ( $0,16 \pm 0,01$  U/mg de proteína), capacidade antioxidante enzimática foi de ( $95,38 \pm 4,83$  mM de  $\text{FeSO}_4$  /mg de proteína) para o grupo não-treinado e ( $95,93 \pm 5,32$  mM de  $\text{FeSO}_4$  /mg de proteína) HIIT (Gráfico 3B, D, F).

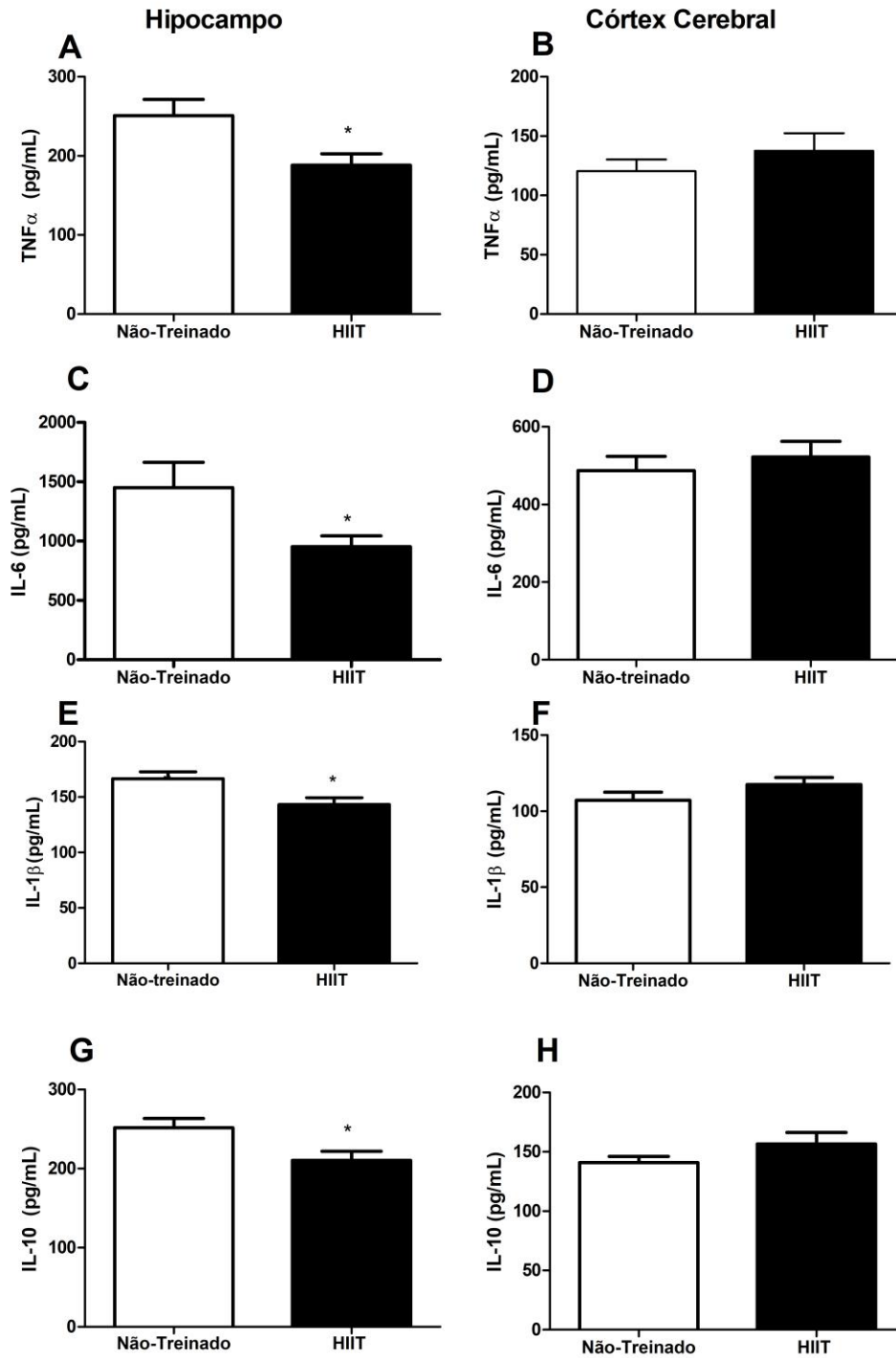
Gráfico 3 - Efeitos de um programade HIIT com duração de 6 semanas nas atividades da enzima SOD (U/mg de proteína) (A,B) e CAT ( $\Delta E/\text{min}/\text{mg}$  de proteína) (C,D) e FRAP ( $\mu\text{M}$  de  $\text{FeSO}_4/\text{mg}$  de proteína) (E,F) no hipocampo e córtex cerebral. Os dados foram apresentados em média  $\pm$ EPM. Os grupos não-treinado (n=11) e HIIT (n=9), \* $p \leq 0,05$ .



#### 5.4 Mediadores Inflamatórios

Para investigar o papel do HIIT em mediadores inflamatórios foram avaliadas as concentrações de citocinas (pg/mL) nos homogenatos do hipocampo e córtex cerebral dos animais. As concentrações de todos os mediadores inflamatórios avaliados foram reduzidas no hipocampo do grupo HIIT: TNF- $\alpha$  não-treinado ( $250,8 \pm 20,55$  pg/mL) e HIIT ( $188,2 \pm 14,33$  pg/mL); IL-6 não- treinado ( $1451 \pm 213,4$  pg/mL) e HIIT ( $952,6 \pm 91,75$  pg/mL); IL-1 $\beta$  não-treinado ( $166,4 \pm 6,32$  pg/mL) e HIIT ( $143,1 \pm 6,362$  pg/mL); IL-10 não-treinado ( $251,7 \pm 11,68$  pg/mL) e HIIT ( $210,4 \pm 11,51$  pg/mL) (Gráfico 4 A, C, E, G). Estes mesmos mediadores inflamatórios quando avaliados no córtex cerebral não apresentaram diferenças significativas ao se comparar os grupos TNF- $\alpha$  não-treinado ( $120,4 \pm 9,8$  pg/mL) e HIIT ( $137,5 \pm 14,92$  pg/mL); IL-6 não-treinado ( $487,1 \pm 36,6$  pg/mL) e HIIT ( $522,5 \pm 39,85$  pg/mL); IL-1 $\beta$  não-treinado ( $107,2 \pm 5,34$  pg/mL) e HIIT ( $117,5 \pm 4,78$  pg/mL); IL-10 não-treinado ( $140,8 \pm 5,31$  pg/mL) e HIIT ( $156,5 \pm 9,79$  pg/mL) (Gráfico 4B,D,F,H).

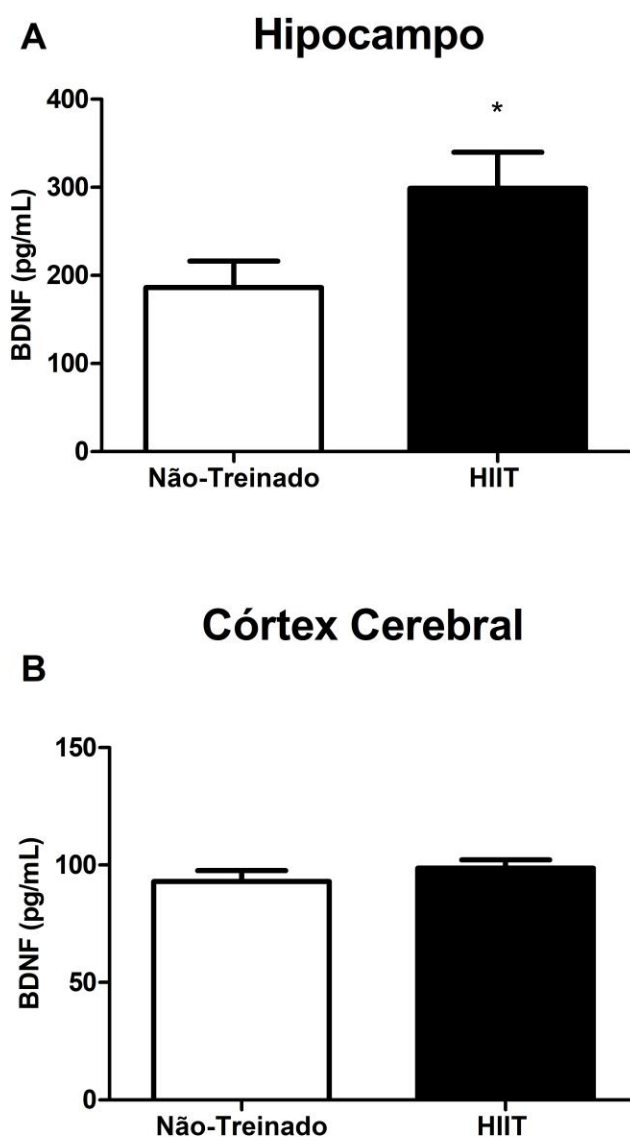
Gráfico 4 - Efeito de 6 semanas de HIIT na concentração de mediadores inflamatórios no hipocampo (A,C,E,G) e córtex cerebral de ratos (B,D,F,H). Os dados são apresentados em média  $\pm$  EPM, grupo não-treinado (n=7) e HIIT (n=12), \* $p \leq 0,05$ .



### 5.5 BDNF

Após 6 semanas de treinamento a concentração de BDNF apresentou-se aumentada no hipocampo do grupo HIIT, comparada ao grupo não-treinado ( $186,2 \pm 30,04$  pg/mL) e HIIT ( $298,9 \pm 41,04$  pg/mL) (Gráfico 5A). Entretanto, não ocorreu diferença na concentração de BDNF entre os grupos no córtex cerebral, não-treinado ( $93,09 \pm 4,59$  pg/mL) e HIIT ( $98,75 \pm 3,79$  pg/mL) (Gráfico 5B).

Gráfico 5 - Efeito de 6 semanas de HIIT na concentração de BDNF no hipocampo (A) e córtex cerebral (B). Os dados foram apresentados em médias  $\pm$  EPM. Grupos não-treinado (n=7) e HIIT (n=12), \* $p \leq 0,05$ . O teste estatístico utilizado o teste T de Student.



## **5.6 Testes Comportamentais**

### **5.6.1 Tarefa de Reconhecimento espacial de objeto**

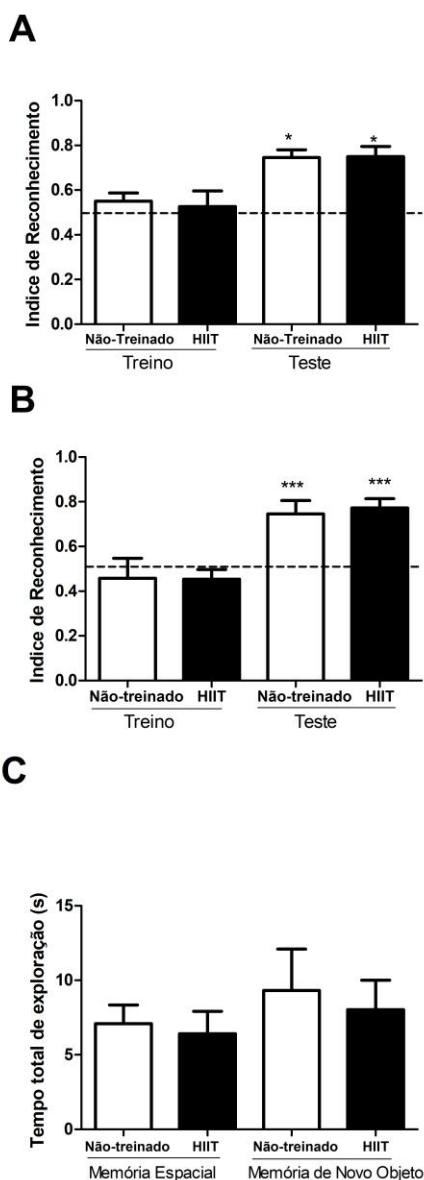
Não foi observado efeito do HIIT no tempo total de exploração durante a fase treino da tarefa de reconhecimento espacial de objeto. Já o desempenho na fase de teste de ambos os grupos foi estatisticamente diferente: não treinado na fase treino ( $0.55 \pm 0.03$ ) versus fase teste ( $0.74 \pm 0.03$ ); e HIIT na fase treino ( $0.52 \pm 0.07$ ) versus fase teste ( $0.74 \pm 0.04$ ) ( $p < 0.05$ ). Todavia, como mostrado no Gráfico 6A não houve diferença entre os grupos não-treinados e HIIT na fase teste ( $p < 0.05$ ). Em conjunto, os resultados do presente estudo mostraram que o protocolo de HIIT utilizado não afeta a atividade exploratória dos ratos, nem melhora o desempenho na tarefa de reconhecimento espacial de objeto.

### **5.6.2 Tarefa de Reconhecimento de Novo Objeto**

O protocolo de HIIT não alterou a atividade exploratória na tarefa de reconhecimento de novo objeto. O teste t de uma amostra revela que o desempenho na fase teste foi diferente: não-treinado na fase treino ( $0.45 \pm 0.08$ ) versus fase teste ( $0.74 \pm 0.05$ ) e HIIT fase treino ( $0.45 \pm 0.04$ ) versus fase teste ( $0.77 \pm 0.04$ ). Contudo, não houve diferença de desempenho entre os grupos para a tarefa de reconhecimento de novo objeto (Gráfico 6B).

Além disso, não houve diferença no tempo total de exploração nas fases testes, de ambas as tarefas, ou seja, tarefa de reconhecimento espacial de objeto: não-treinado ( $7.09 \pm 1.25$  s), HIIT ( $9.31 \pm 2.77$  s); e para a tarefa de reconhecimento de novo objeto: não-treinado ( $9.31 \pm 2.77$  s), HIIT ( $6.42 \pm 1.50$  s) (Gráfico 6C).

Gráfico 6 - Efeitos de 6 semanas de HIIT na tarefa de reconhecimento espacial de objeto (A), tarefa de reconhecimento de novo objeto (B) e tempo total de exploração (C) (n=39). Os dados apresentados em médias  $\pm$  EPM. Os testes estatísticos utilizados foram o Anova- two way e One sample teste T (A,B), teste T de Student (C),\*  $p \leq 0,05$  e \*\*\*  $p < 0,001$ . A linha tracejada representa o valor médio esperado para a população.



### 5.7 Peso das Adrenais

Como medida da resposta do eixo HHA ao estresse crônico, foi utilizado como parâmetro de avaliação peso relativo da glândula adrenal (mg/100g de peso corporal) nos animais de ambos os grupos. O peso relativo no grupo não-treinado ( $14,28\text{mg} \pm 1,02$ ) foi inferior ao HIIT ( $17,81\text{mg} \pm 0,71$ ), a comparação entre os grupos foi realizada por meio do teste T de Student ( $p=0,01$ ).



## 6 DISCUSSÃO

Até o presente momento tem sido mostrado que o treinamento físico de intensidade baixa e moderada, bem como os exercícios voluntários são capazes de melhorar a memória espacial que é associada a função hipocampal<sup>1; 2; 42</sup> e a memória de reconhecimento de novo objeto<sup>5</sup> tal melhora associada a redução do desequilíbrio redox no encéfalo<sup>6</sup>, redução de mediadores pró-inflamatórios no SNC<sup>74; 101</sup> e aumento da concentração de BDNF<sup>5; 42</sup>. Contudo o exercício de alta intensidade promove piora aumento do desequilíbrio redox<sup>17</sup>, aumento da concentração de mediadores pró-inflamatórios<sup>84</sup> concomitante a pior desempenho em testes de memória<sup>16; 17; 84</sup>. Além disso, o treinamento intervalado de alta intensidade apresenta efeitos controversos no SNC, tais como aumento de neurotrofinas BDNF e GDNF<sup>26</sup> entretanto outro estudo não observou aumento da neurogênese hipocampal em animais que praticaram o HIIT<sup>24</sup>.

No presente estudo, foi escolhido um protocolo de exercício de alta intensidade, com o consumo de oxigênio durante o exercício foi próximo da capacidade máxima dos animais, ou seja 85% do  $VO_{2máx}^{20}$ . Foi demonstrado que o ganho de massa corporal foi reduzido no grupo HIIT, e o desempenho em teste de esforço máximo foi aumentado. Desta maneira, o nosso protocolo demonstrou ser eficiente em promover adaptações cardiometabólicas. Estes resultados estão de acordo com outros estudos que mostraram que o HIIT promove adaptações energéticas e metabólicas, tanto em humanos<sup>21</sup> quanto em ratos<sup>22</sup>.

No entanto, há pouca informação sobre o impacto do HIIT no estado cerebrovascular e cognitivo<sup>11</sup>, sendo os dados disponíveis em pesquisa com humanos limitados para avaliar mecanismos moleculares no SNC, devido aos aspectos éticos. Também sabe-se que o exercício de alta intensidade aumenta a demanda energética no encéfalo, que tem um capacidade antioxidante limitada<sup>67</sup>, dessa forma, investigamos o impacto do HIIT sobre parâmetros do estado redox no hipocampo e córtex cerebral. O programa de HIIT empregado no presente estudo foi eficaz contra a peroxidação lipídica no hipocampo, indicando uma redução do dano oxidativo nos lipídios deste substrato. Afzalpour et. al, (2015) observaram que seis semanas de HIIT aumentaram o conteúdo cerebral de EROns, mas não avaliaram se o aumento da referida substância implicaria em danos a oxidação cerebral. O presente estudo mostra que o HIIT não provoca aumento da peroxidação lipídica. Entretanto foi observada redução da peroxidação lipídica no hipocampo de animais treinados.

Além disso, comparando o HIIT ao exercício de intensidade moderada e contínuo, há indícios de que o HIIT promova adaptações metabólicas, cardíacas e vasculares equivalentes, se não superiores a modalidade tradicionalmente recomendada<sup>88; 102</sup>. Sabe-se

que os exercícios de intensidade baixa e moderada são reconhecidamente benéficos ao hipocampo<sup>1; 2</sup>. Em um estudo conduzido em roedores machos não foi observada diferença na neurogênese hipocampal após o HIIT<sup>24</sup>. Em relação ao dano oxidativo, o programa de HIIT empregado neste trabalho foi efetivo em diminuir a peroxidação lipídica no hipocampo. Assim como em outra modalidade que também mostrou diminuição da peroxidação lipídica<sup>103</sup>. Contudo em um estudo com camundongos da linhagem C57BL6, 10 dias de exercícios intensos, aumentaram o dano oxidativo cerebral e resultaram em piora da memória<sup>17</sup>. Aguiar Jr et.al, (2010) apesar de não terem avaliado especificamente o dano oxidativo, observaram após um protocolo de exercício intenso a piora de parâmetros relacionados ao sistema antioxidante no corpo estriado, correlacionado há piora da memória implícita. A redução da concentração de TBARS no hipocampo no presente estudo pode ser resultante do aprimoramento da capacidade do sistema antioxidante. Para testar essa hipótese, o efeito do HIIT nos mecanismos de defesa antioxidante enzimático e não enzimático foram avaliados.

A atividade do sistema antioxidante não-enzimático apresentou-se elevada no hipocampo dos animais pertencentes ao grupo HIIT. Os principais contribuintes para a capacidade antioxidante total são o ácido ascórbico, a proteína  $\alpha$ - tocoferol, bilirrubina e o ácido ascórbico que está em altas concentrações na substância cinzenta. O sistema de transporte existente no plexo corioide e nos neurônios tem a função de concentrar ácido ascórbico em neurônios cerebrais e sugerem um importante papel na proteção contra o dano oxidativo e o déficit de memória<sup>104</sup>. Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa não observaram o efeito do treino aeróbio de natação na capacidade antioxidante total no cérebro inteiro<sup>103</sup>, mas agora observamos o aumento da referida capacidade no hipocampo dos animais HIIT. Além disso, Aguiar et. al, (2010) em um estudo com camundongos submetidos a exercícios de alta intensidade mostraram aumento da atividade não-enzimática no córtex pré-frontal e corpo estriado. Adicionalmente, a suplementação com as vitaminas C e E, defesas não-enzimáticas, previnem o desequilíbrio redox em camundongos submetidos a exercícios intensos<sup>17</sup>.

Em relação ao sistema antioxidante enzimático o presente programa de HIIT mostrou um aumento da atividade da enzima SOD no hipocampo, mas não no córtex cerebral. Esta enzima é a primeira linha de defesa contra a formação de radicais livres prejudiciais, pois, converte duas moléculas do anion superóxido em uma molécula de peróxido de hidrogênio e uma de oxigênio. Outro trabalho desenvolvido por este grupo de pesquisa observou aumento da atividade da SOD após um programa de exercício de intensidade

moderada na modalidade de natação<sup>103</sup>. Contudo em outro estudo envolvendo exercícios voluntários não ocorreu alteração na atividade dessa enzima<sup>105</sup>. Diferentemente da SOD, a enzima catalase que converte o peróxido de hidrogênio em água não teve a sua atividade modificada pelo HIIT nos substratos avaliados; este resultado pode ser devido ao baixo conteúdo da catalase em várias áreas cerebrais, incluindo o córtex e o hipocampo<sup>106</sup>. Provavelmente, este resultado também pode ter sido decorrente da modalidade de treinamento, pois 12 semanas de exercícios resistidos aumentaram a atividade da enzima CAT no conteúdo cerebral de ratos wistar<sup>67</sup>. Esta enzima é altamente modulada pelo treinamento de resistência devido a maior utilização da via oxidativa gerando a formação de EROs por vazamento de radicais superóxido da cadeia transportadora de elétrons<sup>107</sup>.

Por outro lado, possivelmente o sistema da glutathione peroxidase pode estar aprimorado, reduzindo radicais livres e consequentemente o dano oxidativo juntamente com o sistema não-enzimático, haja vista que um estudo revelou aumento da atividade da glutathione peroxidase (GPx) no córtex pré-frontal e hipocampo após 9 semanas de exercício de alta intensidade<sup>16</sup>. Os resultados do presente estudo estão de acordo com outros estudos que avaliaram a influência do exercício moderado no aprimoramento de sistemas antioxidantes em regiões cerebrais. Entretanto, este presente estudo não investigou as concentrações do sistema GPX.

A diminuição do dano provocado pela peroxidação lipídica em resposta ao HIIT pode modular a produção de mediadores inflamatórios, porque os produtos da peroxidação lipídica podem induzir a produção de citocinas no cérebro via ativação de toll like receptors (TLRs)<sup>73</sup>. Neste contexto, avaliamos as concentrações de citocinas no córtex cerebral e hipocampo após 6 semanas de HIIT. Em concordância com a nossa hipótese, as citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) e antiinflamatória IL-10 foram reduzidas no hipocampo como resposta adaptativa ao programa de HIIT. Esta análise é importante porque as citocinas tem um papel importante na polarização da resposta imunológica e modulação da homeostase redox<sup>74</sup>. Entretanto em outro estudo, um protocolo de HIIT de 6 semanas promoveu aumento da concentração de TNF- $\alpha$  no cérebro inteiro<sup>26</sup>, contudo, o referido estudo não avaliou o balanço das citocinas e utilizaram um programa de HIIT mais intenso ao utilizado no presente estudo. O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória produzido por macrófagos residentes no tecido, e com outros mediadores aumentam o dano tecidual em processos inflamatórios e estimula a produção da citocina IL-6<sup>81</sup>. Dentre as citocinas pró-inflamatórias, foi avaliada a concentração da IL-6, esta tem um efeito pirogênico e exerce tanto efeitos benéficos quanto maléficos<sup>81</sup>. A IL-6 parece estar envolvida na resposta inflamatória associada

ao insulto isquêmico e pode ser um inibidor da morte neuronal<sup>81</sup>. Contudo em condições neurodegenerativas a IL-6 está com a sua atividade aumentada persistentemente e promove mudanças morfológicas, com aumento da atividade de células da glia<sup>77</sup>. Observou-se ainda, a redução da concentração de IL-1 $\beta$  no hipocampo. Este resultado apresentado corrobora com o estudo no qual foi observado a redução da expressão de IL-1 $\beta$  no sangue e cérebro de animais, que executaram exercícios aeróbios antes e após a isquemia cerebral, seguida de reperfusão<sup>108</sup>. Tal achado, aponta para provável função neuromoduladora específica deste protocolo de HIIT, pois, na literatura há alguns trabalhos indicando que a IL-1 $\beta$  prejudica a memória espacial e plasticidade sináptica em camundongos<sup>109</sup>. Outra atividade desta citocina é a inibição de processos celulares associados a formação de memória, tais como o LTP, por meio da ativação de proteínas cinases<sup>110</sup>. Além disso, esta citocina promove a exacerbação do dano tecidual em processos inflamatórios juntamente com o TNF- $\alpha$ <sup>81</sup>.

A literatura mostra que as citocinas pró-inflamatórias tem correlação negativa com o desempenho em tarefas cognitivas<sup>110</sup>. Entretanto a redução dos mediadores pró-inflamatórios aumenta a neurogênese hipocampo e melhora a memória em decorrência do efeito neuroimunomodulador dos exercícios<sup>9</sup>. Ademais a idade pode ser um fator que influencia os resultados do treinamento, em animais jovens que praticaram exercícios voluntários em ambiente enriquecido por quatro semanas observou-se aumento da atividade da microglia nas células subgranulares do giro denteado do hipocampo, contudo não houve melhora do desempenho destes animais em tarefas de reconhecimento de novo objeto<sup>101</sup>.

No presente estudo postulamos que a redução da concentração da citocina IL-10 foi uma adaptação ao exercício crônico, por mecanismo de feedback negativo em resposta à redução de mediadores pró-inflamatórios. Estes achados sugerem, portanto, que o HIIT pode promover efeitos positivos no SNC ao diminuir as concentrações de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6.

Outra molécula importante que é modulada pelos exercícios físicos é o BDNF, este modifica a função sináptica de curto prazo e a plasticidade sináptica dependente no hipocampo e córtex cerebral<sup>111; 112</sup>. As pesquisas com roedores comparando o efeito do treinamento de baixa e alta intensidade, após oclusão da artéria cerebral média, mostraram que o treinamento de baixa intensidade melhorou o desempenho em teste de memória espacial, por aumentar a concentração entre outras moléculas a do BDNF<sup>1</sup>. O BDNF é altamente expresso no hipocampo e córtex cerebral, o qual contribui para o crescimento neuronal, desenvolvimento da plasticidade, sobrevivência neuronal, neuroproteção, reparo e aprimoramento do processo de aprendizagem<sup>15; 42</sup>. A redução de citocinas pró-inflamatórias,

tais como IL-1 $\beta$ , bem como a redução do desequilíbrio redox estão relacionados a melhora do estado neurotrófico<sup>110</sup>.

Devido à modulação do BDNF na função sináptica de curto-prazo e plasticidade sináptica dependente de atividade no hipocampo e córtex, avaliamos o impacto de um programa de HIIT na tarefa de reconhecimento espacial de objeto. Não observamos uma piora neste tipo de memória, contudo, ratos saudáveis submetidos a 4 semanas de exercício voluntário apresentaram aumento do conteúdo de BDNF no córtex perirrinal, bem como apresentaram melhora no desempenho em uma tarefa de reconhecimento de novo objeto<sup>5</sup>. Adicionalmente, já foi observada uma correlação positiva em animais submetidos ao exercício voluntário e o BDNF hipocampal e outras moléculas associadas aos efeitos plásticos tais como, TRKB e o elemento de resposta associado ao AMPc (CREB)<sup>42</sup> e melhora da memória espacial avaliada pelo teste de labirinto áquatico<sup>42</sup>. Ademais, animais submetidos a 8 semanas de treinamento de natação mostraram melhora no desempenho de reconhecimento espacial, mas o mesmo resultado não foi observado no teste de reconhecimento de novo objeto, estas mudanças estão associadas com modificações sinápticas no hipocampo<sup>2</sup>.

Neste contexto, nossos resultados mostraram que ratos submetidos a seis semanas de HIIT não aumentaram o desempenho na avaliação da memória de curto prazo nas tarefas de reconhecimento de novo objeto e nem na tarefa de reconhecimento espacial de objeto, mas também não tiveram prejuízo dessas tarefas. Os dados da tarefa de reconhecimento de novo objeto (tarefa cortico-dependente) estão de acordo com resultados prévios do grupo de pesquisa, nos quais não foi encontrada melhora do desempenho em tarefa de reconhecimento de novo objeto<sup>2</sup>, pois não foi encontrada melhora em nenhum dos parâmetros avaliados do substrato cortical. Com relação a tarefa de reconhecimento espacial de objeto (hipocampo-dependente), acreditamos que provavelmente, o programa de HIIT desenvolveu adaptações como a diminuição do dano oxidativo, das citocinas pró-inflamatórias e aumento da concentração de BDNF, as quais podem ter atenuado o possível estresse imposto pelo programa de treinamento adotado. Alguns estudos, sugerem que os exercícios de intensidade moderada a alta elevam as concentrações sistêmicas de corticosterona<sup>53; 113</sup>, um importante marcador de estresse.

Diante do exposto, uma forma de se avaliar o estresse é o peso relativo das glândulas adrenais (peso das glândulas adrenais/100 g de peso corporal total), pois, o animal em condições estressantes tem ativação aumentada do eixo hipotálamo-hipófise- adrenal (HHA)<sup>114</sup>. O presente estudo mostrou que os animais treinados tem as glândulas adrenais hipertrofiadas comparado aos animais do grupo não-treinado, o que se deve a provável

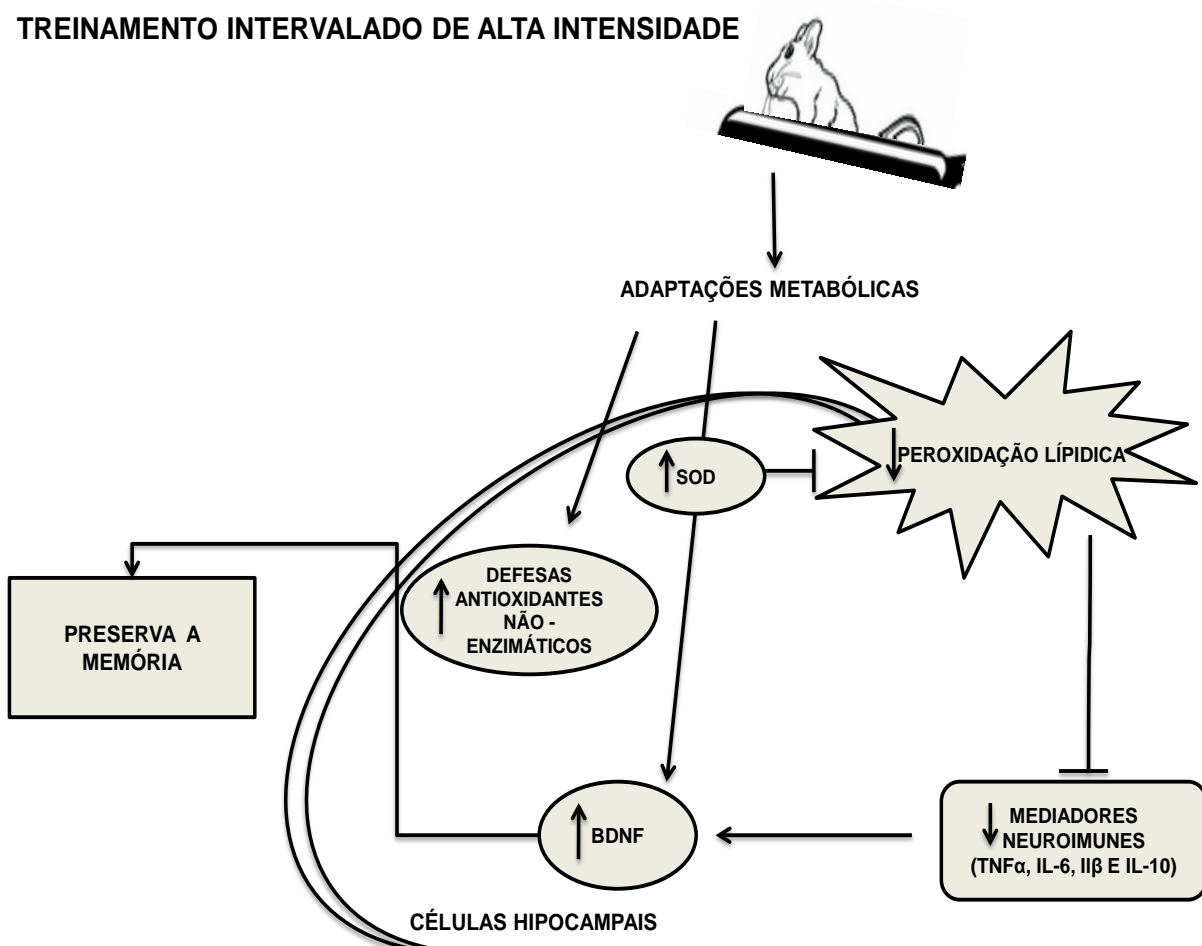
ativação das glândulas, responsável pela liberação de substâncias, tais como, a corticosterona, em situações em que os animais têm a sua homeostase modificada. A ativação prolongada do eixo HHA prejudica o desempenho da memória<sup>53</sup> provavelmente por apresentar uma piora na LTP. Tal suposição é suportada pelo estudo que mostrou que em camundongos knockout para a subunidade NMDAR-2<sup>115</sup> da região CA1 do hipocampo, há piora na LTP na região CA1 associada ao pior desempenho em tarefa envolvendo o componente de memória de reconhecimento de objeto, bem como redução da proliferação celular no hipocampo<sup>116</sup>. Esse efeito poderia ser explicado ao considerarmos o hipocampo um região extremamente sensível ao estresse<sup>53</sup> por apresentar alta densidade de receptores de glicocorticoides, e portanto, suscetível aos seus efeitos<sup>117</sup>.

Adicionalmente, sabe-se que os glicocorticoides prejudicam a recuperação da memória espacial ou contextual dependente do hipocampo em roedores, e memória declarativa em seres humanos<sup>118</sup>. Os glicocorticoides quando se ligam aos seus receptores produzem efeitos rápidos não genômicos e efeitos lentos ou genômicos<sup>119</sup>. Os efeitos dos glicocorticoides na consolidação de memória dependem da ativação induzida por excitação da transmissão noradrenérgica na amígdala e suas interações com outras regiões, tais como, o hipocampo e córtex<sup>120</sup>. O presente estudo não mostrou a influência do HIIT sobre parâmetros neuroinflamatórios e homeostase oxidativa no córtex cerebral. Talvez este resultado ocorreu em virtude de analisarmos o córtex cerebral como um todo, e não porções específicas deste substrato. Já foi reportado, por exemplo, efeito do exercício voluntário de 4 semanas em ratos Long Evans adultos sobre a concentração de BDNF, que apresentou maior concentração no córtex peririnal para o grupo treinado, que apresentou também melhor desempenho em uma tarefa de reconhecimento de novo objeto<sup>5</sup>. Portanto, esta é uma das razões para avaliarmos o córtex e o hipocampo e não o cérebro inteiro, porque as análises no cérebro inteiro podem mascarar diferenças específicas das regiões comparando-se os animais treinados e não-treinados. Dessa forma, destacamos a necessidade de estudos futuros para compreendermos a influência do HIIT em diferentes áreas motoras, bem como avaliar o impacto do HIIT na memória de longo prazo envolvendo as tarefas de reconhecimento espacial e reconhecimento de novo objeto.

Diante dos fatos expostos previamente, este foi o primeiro trabalho a mostrar o efeito positivo de 6 semanas de HIIT sobre o estado redox hipocampal, concentrações de mediadores neuroimunes e BDNF, os quais podem ter efeito na manutenção do desempenho de tarefas de reconhecimento espacial de objeto (hipocampo-dependente) (Figura 8). Além

disso, o programa de HIIT utilizado não modificou estes parâmetros no córtex cerebral, bem como a tarefa de reconhecimento de novo objeto.

**Figura 8 – Representação esquemática dos efeitos neurais do Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) no hipocampo de ratos Wistar.**



SOD= superóxido dismutase, BDNF = Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, TNF- $\alpha$  = Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$ , IL- $\beta$  = Interleucina 1 $\beta$  e IL-6 = Interleucina 6, IL-10 = Interleucina 10 .





## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O programa de HIIT adotado favorece adaptações positivas de parâmetros neuroquímicos no hipocampo, tais como, aumento da defesa antioxidante enzimática e não-enzimática, redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias e aumento da concentração do BDNF neste substrato, sem piorar o desempenho em uma tarefa hipocampo dependente, apesar do sinal indicativo de estresse crônico que é a hipertrofia das glândulas adrenais no grupo HIIT.

Além disso, o programa de HIIT não apresentou efeitos nos parâmetros avaliados para o substrato cortical, reforçando que os efeitos do exercício não são uniformes no encéfalo, estes variam de acordo com a especificidade do substrato.

Dentre as limitações do presente estudo estão as análises neuroquímicas terem sido realizadas no conteúdo cortical total e não em regiões diretamente envolvidas com o controle motor, a avaliação do VO<sub>2</sub> máximo em apenas 5 animais do grupo HIIT, e a não avaliação da atividade da enzima glutathione peroxidase.

O atual estudo abre perspectivas para futuros estudos sobre a avaliação dos efeitos neurais do HIIT em diferentes populações, bem como o efeito desta modalidade de treinamento em tarefas que necessitem da memória de longa duração, além dos seus efeitos comparado a diferentes intensidades de treinamento.



## REFERÊNCIAS

- 1 SHIH, P. C.; YANG, Y. R.; WANG, R. Y. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One*, v. 8, n. 10, p. e78163, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic)  
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24205142> >.
- 2 DRUMOND, L. E. et al. Differential effects of swimming training on neuronal calcium sensor-1 expression in rat hippocampus/cortex and in object recognition memory tasks. *Brain Res Bull*, v. 88, n. 4, p. 385-91, Jul 1 2012. ISSN 1873-2747 (Electronic)  
0361-9230 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22521426> >.
- 3 DI LORETO, S. et al. Regular and moderate exercise initiated in middle age prevents age-related amyloidogenesis and preserves synaptic and neuroprotective signaling in mouse brain cortex. *Exp Gerontol*, v. 57, p. 57-65, Sep 2014. ISSN 1873-6815 (Electronic)  
0531-5565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24835196> >.
- 4 MOURAO, F. A. et al. Neuroprotective effect of exercise in rat hippocampal slices submitted to in vitro ischemia is promoted by decrease of glutamate release and pro-apoptotic markers. *J Neurochem*, v. 131, n. 1, p. 65-73, Oct 2014. ISSN 1471-4159 (Electronic)  
0022-3042 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24903976> >.
- 5 HOPKINS, M. E.; NITECKI, R.; BUCCI, D. J. Physical exercise during adolescence versus adulthood: differential effects on object recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels. *Neuroscience*, v. 194, p. 84-94, Oct 27 2011. ISSN 1873-7544 (Electronic)  
0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21839807> >.
- 6 NAVARRO, A. et al. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 286, n. 3, p. R505-11, Mar 2004. ISSN 0363-6119 (Print)  
0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14615275> >.
- 7 RADAK, Z. et al. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int*, v. 38, n. 1, p. 17-23, Jan 2001. ISSN 0197-0186 (Print)  
0197-0186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913684> >.

- 8      RADAK, Z. et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int*, v. 49, n. 4, p. 387-92, Sep 2006. ISSN 0197-0186 (Print)  
0197-0186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16564605> >.
- 9      SPEISMAN, R. B. et al. Daily exercise improves memory, stimulates hippocampal neurogenesis and modulates immune and neuroimmune cytokines in aging rats. *Brain Behav Immun*, v. 28, p. 25-43, Feb 2013. ISSN 1090-2139 (Electronic)  
0889-1591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23078985> >.
- 10     BLACK, J. E. et al. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 87, n. 14, p. 5568-72, Jul 1990. ISSN 0027-8424 (Print)  
0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1695380> >.
- 11     LUCAS, S. J. et al. High-intensity interval exercise and cerebrovascular health: curiosity, cause, and consequence. *J Cereb Blood Flow Metab*, v. 35, n. 6, p. 902-11, Jun 2015. ISSN 1559-7016 (Electronic)  
0271-678X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25833341> >.
- 12     OLSON, A. K. et al. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*, v. 16, n. 3, p. 250-60, 2006. ISSN 1050-9631 (Print)  
1050-9631 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16411242> >.
- 13     CECHELLI, F. et al. Forced treadmill exercise prevents oxidative stress and memory deficits following chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Neurobiol Learn Mem*, v. 97, n. 1, p. 90-6, Jan 2012. ISSN 1095-9564 (Electronic)  
1074-7427 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22001013> >.
- 14     KLEIM, J. A.; COOPER, N. R.; VANDENBERG, P. M. Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. *Brain Res*, v. 934, n. 1, p. 1-6, Apr 26 2002. ISSN 0006-8993 (Print)  
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11937064> >.
- 15     LOU, S. J. et al. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res*, v. 1210, p. 48-55, May 19 2008. ISSN 0006-8993 (Print)  
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18423578> >.
- 16     AGUIAR, A. S., JR. et al. High-intensity physical exercise disrupts implicit memory in mice: involvement of the striatal glutathione antioxidant system and

- intracellular signaling. *Neuroscience*, v. 171, n. 4, p. 1216-27, Dec 29 2010. ISSN 1873-7544 (Electronic)  
0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20888397> >.
- 17 ROSA, E. F. et al. Oxidative stress induced by intense and exhaustive exercise impairs murine cognitive function. *J Neurophysiol*, v. 98, n. 3, p. 1820-6, Sep 2007. ISSN 0022-3077 (Print)  
0022-3077 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17625057> >.
- 18 ALVES, C. R. et al. Influence of acute high-intensity aerobic interval exercise bout on selective attention and short-term memory tasks. *Percept Mot Skills*, v. 118, n. 1, p. 63-72, Feb 2014. ISSN 0031-5125 (Print)  
0031-5125 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24724513> >.
- 19 HARAM, P. M. et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res*, v. 81, n. 4, p. 723-32, Mar 01 2009. ISSN 1755-3245 (Electronic)  
0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19047339> >.
- 20 SONGSTAD, N. T. et al. Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses. *PLoS One*, v. 10, n. 11, p. e0143095, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic)  
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26566220> >.
- 21 GILLEN, J. B.; GIBALA, M. J. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? *Appl Physiol Nutr Metab*, v. 39, n. 3, p. 409-12, Mar 2014. ISSN 1715-5320 (Electronic)  
1715-5312 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24552392> >.
- 22 HOSHINO, D. et al. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, v. 38, n. 3, p. 326-33, Mar 2013. ISSN 1715-5320 (Electronic)  
1715-5312 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23537026> >.
- 23 HOLLOWAY, T. M. et al. High-intensity interval and endurance training are associated with divergent skeletal muscle adaptations in a rodent model of hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 308, n. 11, p. R927-34, Jun 01 2015. ISSN 1522-1490 (Electronic)  
0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855305> >.

- 24 NOKIA, M. S. et al. Physical exercise increases adult hippocampal neurogenesis in male rats provided it is aerobic and sustained. *J Physiol*, v. 594, n. 7, p. 1855-73, Apr 1 2016. ISSN 1469-7793 (Electronic)  
0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26844666> >.
- 25 CASTILLA-ORTEGA, E. et al. Voluntary exercise followed by chronic stress strikingly increases mature adult-born hippocampal neurons and prevents stress-induced deficits in 'what-when-where' memory. *Neurobiol Learn Mem*, v. 109, p. 62-73, Mar 2014. ISSN 1095-9564 (Electronic)  
1074-7427 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24333647> >.
- 26 AFZALPOUR, M. E. et al. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiol Behav*, v. 147, p. 78-83, Aug 1 2015. ISSN 1873-507X (Electronic)  
0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25868740> >.
- 27 BERCHTOLD, N. C.; CASTELLO, N.; COTMAN, C. W. Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience*, v. 167, n. 3, p. 588-97, May 19 2010. ISSN 1873-7544 (Electronic)  
0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20219647> >.
- 28 DISHMAN, R. K. et al. Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)*, v. 14, n. 3, p. 345-56, Mar 2006. ISSN 1930-7381 (Print)  
1930-7381 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648603> >.
- 29 HARBER, M. P. et al. Aerobic exercise training induces skeletal muscle hypertrophy and age-dependent adaptations in myofiber function in young and older men. *J Appl Physiol* (1985), v. 113, n. 9, p. 1495-504, Nov 2012. ISSN 1522-1601 (Electronic)  
0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22984247> >.
- 30 KEMMLER, W.; VON STENGEL, S. Alternative Exercise Technologies to Fight against Sarcopenia at Old Age: A Series of Studies and Review. *J Aging Res*, v. 2012, p. 109013, 2012. ISSN 2090-2212 (Electronic)  
2090-2204 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22500224> >.
- 31 NEGRAO, C. E. et al. Vagal function impairment after exercise training. *J Appl Physiol* (1985), v. 72, n. 5, p. 1749-53, May 1992. ISSN 8750-7587 (Print)  
0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1601782> >.
- 32 SCHAIBLE, T. F. et al. Chronic swimming reverses cardiac dysfunction and myosin abnormalities in hypertensive rats. *J Appl Physiol* (1985), v. 60, n. 4, p. 1435-41, Apr 1986. ISSN 8750-7587 (Print)

- 0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2939053> >.
- 33 PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev*, v. 80, n. 3, p. 1055-81, Jul 2000. ISSN 0031-9333 (Print)  
0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10893431> >.
- 34 CASEY, E.; MISTRY, D. J.; MACKNIGHT, J. M. Training room management of medical conditions: sports gastroenterology. *Clin Sports Med*, v. 24, n. 3, p. 525-40, viii, Jul 2005. ISSN 1556-228X (Electronic)  
0278-5919 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16004918> >.
- 35 COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*, v. 25, n. 6, p. 295-301, Jun 2002. ISSN 0166-2236 (Print)  
0166-2236 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12086747> >.
- 36 HILL, R. D.; STORANDT, M.; MALLEY, M. The impact of long-term exercise training on psychological function in older adults. *J Gerontol*, v. 48, n. 1, p. P12-7, Jan 1993. ISSN 0022-1422 (Print)  
0022-1422 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8418145> >.
- 37 LAURIN, D. et al. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol*, v. 58, n. 3, p. 498-504, Mar 2001. ISSN 0003-9942 (Print)  
0003-9942 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11255456> >.
- 38 ROGERS, H.; BIRCH, P. J.; HAYES, A. G. Effects of hypoxia and hypoglycaemia on DC potentials recorded from the gerbil hippocampus in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, v. 342, n. 5, p. 547-53, Nov 1990. ISSN 0028-1298 (Print)  
0028-1298 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2090952> >.
- 39 VAN PRAAG, H. et al. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 96, n. 23, p. 13427-31, Nov 9 1999. ISSN 0027-8424 (Print)  
0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10557337> >.
- 40 LAMPRECHT, R.; LEDOUX, J. Structural plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci*, v. 5, n. 1, p. 45-54, Jan 2004. ISSN 1471-003X (Print)  
1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14708003> >.

- 41 BIRD, C. M.; BURGESS, N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat Rev Neurosci*, v. 9, n. 3, p. 182-94, Mar 2008. ISSN 1471-0048 (Electronic)  
1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18270514> >.
- 42 LEE, M. C. et al. Voluntary resistance running with short distance enhances spatial memory related to hippocampal BDNF signaling. *J Appl Physiol* (1985), v. 113, n. 8, p. 1260-6, Oct 15 2012. ISSN 1522-1601 (Electronic)  
0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22936723> >.
- 43 KITAMURA, T.; INOKUCHI, K. Role of adult neurogenesis in hippocampal-cortical memory consolidation. *Mol Brain*, v. 7, p. 13, Feb 19 2014. ISSN 1756-6606 (Electronic)  
1756-6606 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24552281> >.
- 44 NEEPER, S. A. et al. Exercise and brain neurotrophins. *Nature*, v. 373, n. 6510, p. 109, Jan 12 1995. ISSN 0028-0836 (Print)  
0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7816089> >.
- 45 CARRO, E. et al. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci*, v. 21, n. 15, p. 5678-84, Aug 01 2001. ISSN 1529-2401 (Electronic)  
0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11466439> >.
- 46 GOMEZ-PINILLA, F.; DAO, L.; SO, V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Res*, v. 764, n. 1-2, p. 1-8, Aug 01 1997. ISSN 0006-8993 (Print)  
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9295187> >.
- 47 VAYNMAN, S.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci*, v. 20, n. 10, p. 2580-90, Nov 2004. ISSN 0953-816X (Print)  
0953-816X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15548201> >.
- 48 NEEPER, S. A. et al. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*, v. 726, n. 1-2, p. 49-56, Jul 8 1996. ISSN 0006-8993 (Print)  
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8836544> >.
- 49 VOSS, M. W. et al. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. *Brain Behav Immun*, v. 28, p. 90-9, Feb 2013. ISSN 1090-2139 (Electronic)  
0889-1591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23123199> >.



- 50 ARIDA, R. M. et al. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neurosci Lett*, v. 364, n. 3, p. 135-8, Jul 08 2004. ISSN 0304-3940 (Print)  
0304-3940 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15196661> >.
- 51 AKSU, I. et al. Effect of acute and chronic exercise on oxidant-antioxidant equilibrium in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neurosci Lett*, v. 452, n. 3, p. 281-5, Mar 20 2009. ISSN 1872-7972 (Electronic)  
0304-3940 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18817845> >.
- 52 SCHULTZ, C.; ENGELHARDT, M. Anatomy of the hippocampal formation. *Front Neurol Neurosci*, v. 34, p. 6-17, 2014. ISSN 1662-2804 (Electronic)  
0300-5186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24777126> >.
- 53 KIM, J. J.; DIAMOND, D. M. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat Rev Neurosci*, v. 3, n. 6, p. 453-62, Jun 2002. ISSN 1471-003X (Print)  
1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12042880> >.
- 54 INDO, H. P. et al. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *J Clin Biochem Nutr*, v. 56, n. 1, p. 1-7, Jan 2015. ISSN 0912-0009 (Print)  
0912-0009 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25834301> >.
- 55 SOMANI, S. M.; HUSAIN, K. Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on antioxidant system of rat brain regions. *J Appl Toxicol*, v. 17, n. 5, p. 329-36, Sep-Oct 1997. ISSN 0260-437X (Print)  
0260-437X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9339746> >.
- 56 HALLIWELL, B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*, v. 70, n. 6, p. 737-57, Dec 1989. ISSN 0007-1021 (Print)  
0007-1021 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2557883> >.
- 57 CHONG, Z. Z.; LI, F.; MAIESE, K. Oxidative stress in the brain: novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. *Prog Neurobiol*, v. 75, n. 3, p. 207-46, Feb 2005. ISSN 0301-0082 (Print)  
0301-0082 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15882775> >.
- 58 STORZ, G.; IMLAY, J. A. Oxidative stress. *Curr Opin Microbiol*, v. 2, n. 2, p. 188-94, Apr 1999. ISSN 1369-5274 (Print)

- 1369-5274 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10322176> >.
- 59 LILIUS, E. M.; MARNILA, P. Photon emission of phagocytes in relation to stress and disease. *Experientia*, v. 48, n. 11-12, p. 1082-91, Dec 01 1992. ISSN 0014-4754 (Print)  
0014-4754 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1473571> >.
- 60 HEHNER, S. P. et al. Enhancement of T cell receptor signaling by a mild oxidative shift in the intracellular thiol pool. *J Immunol*, v. 165, n. 8, p. 4319-28, Oct 15 2000. ISSN 0022-1767 (Print)  
0022-1767 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11035067> >.
- 61 MONTINE, T. J. et al. Lipid peroxidation in aging brain and Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*, v. 33, n. 5, p. 620-6, Sep 01 2002. ISSN 0891-5849 (Print)  
0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12208348> >.
- 62 SAKAMAKI, K. Regulation of endothelial cell death and its role in angiogenesis and vascular regression. *Curr Neurovasc Res*, v. 1, n. 4, p. 305-15, Oct 2004. ISSN 1567-2026 (Print)  
1567-2026 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16181080> >.
- 63 CHAN, P. H. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke*, v. 27, n. 6, p. 1124-9, Jun 1996. ISSN 0039-2499 (Print)  
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8650725> >.
- 64 BRIGELIUS-FLOHE, R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*, v. 27, n. 9-10, p. 951-65, Nov 1999. ISSN 0891-5849 (Print)  
0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10569628> >.
- 65 STEINBACHER, P.; ECKL, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, v. 5, n. 2, p. 356-77, Apr 10 2015. ISSN 2218-273X (Electronic)  
2218-273X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25866921> >.
- 66 BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, v. 239, n. 1, p. 70-6, Jul 15 1996. ISSN 0003-2697 (Print)  
0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8660627> >.
- 67 CAMILETTI-MOIRON, D. et al. High-protein diet induces oxidative stress in rat brain: protective action of high-intensity exercise against lipid peroxidation. *Nutr Hosp*, v. 31, n. 2, p. 866-74, Oct 25 2014. ISSN 1699-5198 (Electronic)

- 0212-1611 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25617575> >.
- 68 VLADIMIROV, Y. A. et al. Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Adv Lipid Res*, v. 17, p. 173-249, 1980. ISSN 0065-2849 (Print) 0065-2849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6992527> >.
- 69 CANDELARIO-JALIL, E. et al. Time course of oxidative damage in different brain regions following transient cerebral ischemia in gerbils. *Neurosci Res*, v. 41, n. 3, p. 233-41, Nov 2001. ISSN 0168-0102 (Print) 0168-0102 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11672836> >.
- 70 CECHETTI, F. et al. Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. *Brain Res*, v. 1188, p. 182-8, Jan 10 2008. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18021756> >.
- 71 MAROSI, K. et al. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*, v. 226, p. 21-8, Dec 13 2012. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22982624> >.
- 72 LEITE, H. R. et al. Swim training attenuates oxidative damage and promotes neuroprotection in cerebral cortical slices submitted to oxygen glucose deprivation. *J Neurochem*, v. 123, n. 2, p. 317-24, Oct 2012. ISSN 1471-4159 (Electronic) 0022-3042 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22913494> >.
- 73 TANG, S. C. et al. Toll-like receptor-4 mediates neuronal apoptosis induced by amyloid beta-peptide and the membrane lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. *Exp Neurol*, v. 213, n. 1, p. 114-21, Sep 2008. ISSN 1090-2430 (Electronic) 0014-4886 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18586243> >.
- 74 HEGAZY, H. G.; ALI, E. H.; ELGOLY, A. H. Interplay between pro-inflammatory cytokines and brain oxidative stress biomarkers: evidence of parallels between butyl paraben intoxication and the valproic acid brain physiopathology in autism rat model. *Cytokine*, v. 71, n. 2, p. 173-80, Feb 2015. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25461396> >.
- 75 ONORE, C.; CAREAGA, M.; ASHWOOD, P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav Immun*, v. 26, n. 3, p. 383-92, Mar 2012. ISSN 1090-2139 (Electronic)

- 0889-1591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21906670> >.
- 76 DUNN, A. J. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. Clin Neurosci Res, v. 6, n. 1-2, p. 52-68, Aug 2006. ISSN 1566-2772 (Print) 1566-2772 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18079991> >.
- 77 PARKER-ATHILL, E. C.; TAN, J. Maternal immune activation and autism spectrum disorder: interleukin-6 signaling as a key mechanistic pathway. Neurosignals, v. 18, n. 2, p. 113-28, 2010. ISSN 1424-8638 (Electronic) 1424-862X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20924155> >.
- 78 GOMES DA SILVA, S. et al. Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. J Neuroinflammation, v. 10, p. 61, 2013. ISSN 1742-2094 (Electronic) 1742-2094 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23663962> >.
- 79 GRILLI, M. et al. Interleukin-10 modulates neuronal threshold of vulnerability to ischaemic damage. Eur J Neurosci, v. 12, n. 7, p. 2265-72, Jul 2000. ISSN 0953-816X (Print) 0953-816X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10947805> >.
- 80 KRZYSZTON, C. P. et al. Exacerbated fatigue and motor deficits in interleukin-10-deficient mice after peripheral immune stimulation. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v. 295, n. 4, p. R1109-14, Oct 2008. ISSN 0363-6119 (Print) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18650318> >.
- 81 LUCAS, S. M.; ROTHWELL, N. J.; GIBSON, R. M. The role of inflammation in CNS injury and disease. Br J Pharmacol, v. 147 Suppl 1, p. S232-40, Jan 2006. ISSN 0007-1188 (Print) 0007-1188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16402109> >.
- 82 O'DONNELL, E.; VEREKER, E.; LYNCH, M. A. Age-related impairment in LTP is accompanied by enhanced activity of stress-activated protein kinases: analysis of underlying mechanisms. Eur J Neurosci, v. 12, n. 1, p. 345-52, Jan 2000. ISSN 0953-816X (Print) 0953-816X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10651889> >.
- 83 CHENNAOUI, M. et al. Effects of exercise on brain and peripheral inflammatory biomarkers induced by total sleep deprivation in rats. J Inflamm (Lond), v. 12, p. 56, 2015. ISSN 1476-9255 (Electronic) 1476-9255 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26425116> >.

- 84 SUN, L. N. et al. High-intensity treadmill running impairs cognitive behavior and hippocampal synaptic plasticity of rats via activation of inflammatory response. *J Neurosci Res*, Dec 05 2016. ISSN 1097-4547 (Electronic) 0360-4012 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27918079> >.
- 85 GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc Sport Sci Rev*, v. 36, n. 2, p. 58-63, Apr 2008. ISSN 0091-6331 (Print) 0091-6331 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18362686> >.
- 86 ROSS, A.; LEVERITT, M. Long-term metabolic and skeletal muscle adaptations to short-sprint training: implications for sprint training and tapering. *Sports Med*, v. 31, n. 15, p. 1063-82, 2001. ISSN 0112-1642 (Print) 0112-1642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11735686> >.
- 87 BURGOMASTER, K. A. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol* (1985), v. 98, n. 6, p. 1985-90, Jun 2005. ISSN 8750-7587 (Print) 0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15705728> >.
- 88 LITTLE, J. P. et al. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol*, v. 588, n. Pt 6, p. 1011-22, Mar 15 2010. ISSN 1469-7793 (Electronic) 0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20100740> >.
- 89 TABAK, A. G. et al. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet*, v. 379, n. 9833, p. 2279-90, Jun 16 2012. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22683128> >.
- 90 GIBALA, M. J. et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol*, v. 575, n. Pt 3, p. 901-11, Sep 15 2006. ISSN 0022-3751 (Print) 0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16825308> >.
- 91 BOGDANIS, G. C. et al. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol*, v. 61, p. 171-7, Nov 2013. ISSN 1873-6351 (Electronic) 0278-6915 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23747717> >.

- <sup>92</sup> DE ARAUJO, G. G. et al. Short and Long Term Effects of High-Intensity Interval Training on Hormones, Metabolites, Antioxidant System, Glycogen Concentration, and Aerobic Performance Adaptations in Rats. *Front Physiol*, v. 7, p. 505, 2016. ISSN 1664-042X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27840611> >.
- <sup>93</sup> SARIR, H. et al. Effect of vitamin E succinate on inflammatory cytokines induced by high-intensity interval training. *J Res Med Sci*, v. 20, n. 12, p. 1177-81, Dec 2015. ISSN 1735-1995 (Print) 1735-1995 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26958053> >.
- <sup>94</sup> LACERDA, A. C. et al. Central nitric oxide inhibition modifies metabolic adjustments induced by exercise in rats. *Neurosci Lett*, v. 410, n. 2, p. 152-6, Dec 20 2006. ISSN 0304-3940 (Print) 0304-3940 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17084969> >.
- <sup>95</sup> AGUIAR, A. S., JR. et al. Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. *Mech Ageing Dev*, v. 132, n. 11-12, p. 560-7, Nov-Dec 2011. ISSN 1872-6216 (Electronic) 0047-6374 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21983475> >.
- <sup>96</sup> OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, v. 95, n. 2, p. 351-8, Jun 1979. ISSN 0003-2697 (Print) 0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36810> >.
- <sup>97</sup> SRIVASTAVA, S. et al. Downregulation of CuZn-superoxide dismutase contributes to beta-adrenergic receptor-mediated oxidative stress in the heart. *Cardiovasc Res*, v. 74, n. 3, p. 445-55, Jun 1 2007. ISSN 0008-6363 (Print) 0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17362897> >.
- <sup>98</sup> NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions in the UV). *Anal Biochem*, v. 49, n. 2, p. 474-8, Oct 1972. ISSN 0003-2697 (Print) 0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5082943> >.
- <sup>99</sup> BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, v. 72, p. 248-54, May 7 1976. ISSN 0003-2697 (Print) 0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051> >.

- 100 ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res*, v. 31, n. 1, p. 47-59, Nov 1 1988. ISSN 0166-4328 (Print)  
0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3228475> >.
- 101 SOCH, A. et al. Effects of exercise on adolescent and adult hypothalamic and hippocampal neuroinflammation. *Hippocampus*, v. 26, n. 11, p. 1435-1446, Nov 2016. ISSN 1098-1063 (Electronic)  
1050-9631 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27438996> >.
- 102 GUIRAUD, T. et al. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports Med*, v. 42, n. 7, p. 587-605, Jul 01 2012. ISSN 1179-2035 (Electronic)  
0112-1642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22694349> >.
- 103 NONATO, L. F. et al. Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not non-enzymatic antioxidant defenses in the rat brain. *Braz J Med Biol Res*, v. 49, n. 10, p. e5310, Sep 29 2016. ISSN 1414-431X (Electronic)  
0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27706439> >.
- 104 DIXIT, S. et al. Vitamin C deficiency in the brain impairs cognition, increases amyloid accumulation and deposition, and oxidative stress in APP/PSEN1 and normally aging mice. *ACS Chem Neurosci*, v. 6, n. 4, p. 570-81, Apr 15 2015. ISSN 1948-7193 (Electronic)  
1948-7193 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25642732> >.
- 105 CHIRICO, E. N. et al. Magnetic resonance imaging biomarkers of exercise-induced improvement of oxidative stress and inflammation in the brain of old high-fat-fed ApoE<sup>-/-</sup> mice. *J Physiol*, v. 594, n. 23, p. 6969-6985, Dec 01 2016. ISSN 1469-7793 (Electronic)  
0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27641234> >.
- 106 LI, J.; WANG, Y. Effect of different methods of hypoxic exercise training on free radical oxidation and antioxidant enzyme activity in the rat brain. *Biomed Rep*, v. 1, n. 6, p. 925-929, Nov 2013. ISSN 2049-9434 (Print)  
2049-9434 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24649054> >.
- 107 LAMBERTUCCI, R. H. et al. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech Ageing Dev*, v. 128, n. 3, p. 267-75, Mar 2007. ISSN 0047-6374 (Print)  
0047-6374 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17224177> >.



- <sup>108</sup> ZHANG, Y. et al. Treadmill exercise promotes neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury via downregulation of pro-inflammatory mediators. *Neuropsychiatr Dis Treat*, v. 12, p. 3161-3173, 2016. ISSN 1176-6328 (Print) 1176-6328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28003752> >.
- <sup>109</sup> HEIN, A. M. et al. Sustained hippocampal IL-1beta overexpression impairs contextual and spatial memory in transgenic mice. *Brain Behav Immun*, v. 24, n. 2, p. 243-53, Feb 2010. ISSN 1090-2139 (Electronic) 0889-1591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19825412> >.
- <sup>110</sup> BARRIENTOS, R. M. et al. Neuroinflammation in the normal aging hippocampus. *Neuroscience*, v. 309, p. 84-99, Nov 19 2015. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25772789> >.
- <sup>111</sup> ALONSO, M. et al. Endogenous BDNF is required for long-term memory formation in the rat parietal cortex. *Learn Mem*, v. 12, n. 5, p. 504-10, Sep-Oct 2005. ISSN 1072-0502 (Print) 1072-0502 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16204202> >.
- <sup>112</sup> ALONSO, M. et al. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. *Hippocampus*, v. 12, n. 4, p. 551-60, 2002. ISSN 1050-9631 (Print) 1050-9631 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12201640> >.
- <sup>113</sup> MURRAY, F.; SMITH, D. W.; HUTSON, P. H. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol*, v. 583, n. 1, p. 115-27, Mar 31 2008. ISSN 0014-2999 (Print) 0014-2999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18289522> >.
- <sup>114</sup> BOWMAN, R. E.; BECK, K. D.; LUINE, V. N. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Horm Behav*, v. 43, n. 1, p. 48-59, Jan 2003. ISSN 0018-506X (Print) 0018-506X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12614634> >.
- <sup>115</sup> SUEN, P. C. et al. Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances phosphorylation of the postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 94, n. 15, p. 8191-5, Jul 22 1997. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9223337> >.



- 116 KUIPERS, S. D. et al. BDNF-induced LTP is associated with rapid Arc/Arg3.1-dependent enhancement in adult hippocampal neurogenesis. *Sci Rep*, v. 6, p. 21222, Feb 18 2016. ISSN 2045-2322 (Electronic)  
2045-2322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26888068> >.
- 117 REUL, J. M.; DE KLOET, E. R. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, v. 117, n. 6, p. 2505-11, Dec 1985. ISSN 0013-7227 (Print)  
0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2998738> >.
- 118 DE QUERVAIN, D.; SCHWABE, L.; ROOZENDAAL, B. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. *Nat Rev Neurosci*, v. 18, n. 1, p. 7-19, Jan 2017. ISSN 1471-0048 (Electronic)  
1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27881856> >.
- 119 DE KLOET, E. R.; KARST, H.; JOELS, M. Corticosteroid hormones in the central stress response: quick-and-slow. *Front Neuroendocrinol*, v. 29, n. 2, p. 268-72, May 2008. ISSN 1095-6808 (Electronic)  
0091-3022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18067954> >.
- 120 DE KLOET, E. R.; JOELS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*, v. 6, n. 6, p. 463-75, Jun 2005. ISSN 1471-003X (Print)  
1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15891777> >.



## ANEXO A –CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO ESTUDO PELA CEUA UFVJM



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## CERTIFICADO

Diamantina, 10 de junho de 2015.

Certificamos que o projeto intitulado " EFEITOS DO EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O ESTADO REDOX E PROMNÉSICO DE RATOS WISTAR ", protocolo nº 031/2015, sob a responsabilidade de Hércules Ribeiro Leite - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/UFVJM) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI, em reunião de 10/06/2015.

Vigência do Projeto	01/09/2015 a 28/08/2018
Espécie/linhagem	<i>Rattus Norvegicus Wistar var</i> (rato wistar)
Nº de animais	60 ratos
Peso/Idade	220 g / 8 semanas
Sexo	60 machos
Origem	Biotério do ICB UFMG – Belo Horizonte

*Com o recebimento deste parecer, o responsável compromete-se a entregar o relatório final da proposta até 60 dias após o término. Em caso de planos de aula, a cada seis meses estes deverão ser revalidados.*

*Ressaltamos que, conforme a Resolução Normativa 1, de 9 de Julho de 2010, qualquer alteração no protocolo previamente aprovado, na equipe técnica, bem como acidentes envolvendo os animais, competem ao responsável a comunicação a CEUA/UFVJM.*

Flavio de Castro Magalhães  
Vice-coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais / UFVJM

Campus JK  
Comissão de Ética no Uso de Animais/ UFVJM  
Prédio da Reitoria-PRPPG- Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000nAlto da Jacuba -  
Diamantina/MG – CEP 39100-000 Telefone: +55 (38) 3532-1200

**CEUA** Comissão de Ética  
no Uso de Animais